



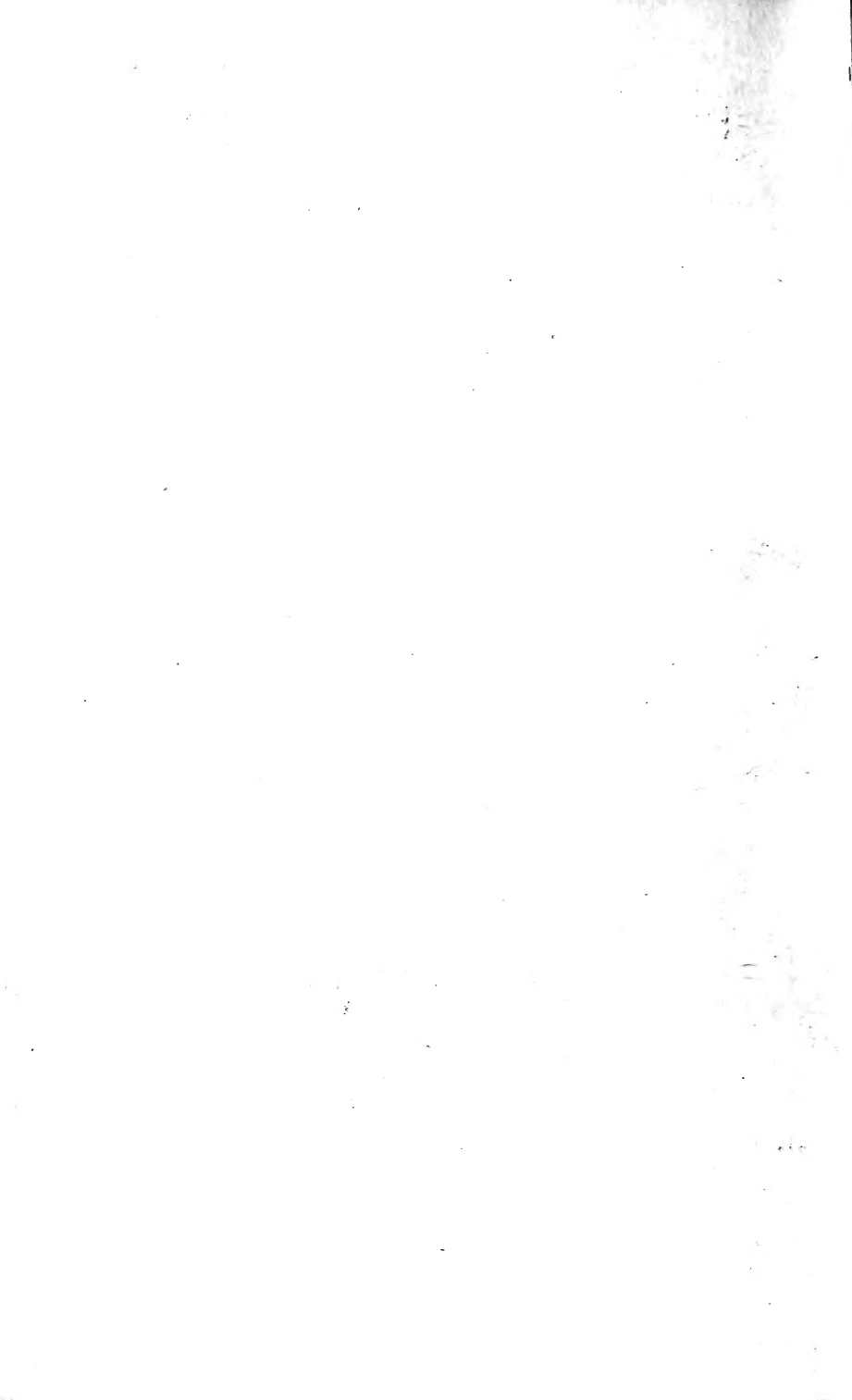
生物化学

★ 钟洪枢 关基石 主编



高等教育出版社

GAODENG JIAOYU CHUBANSHE



58.173
966

生 物 化 学

钟洪枢 关基石 主编

刘聪生 古汉珠 胡乾镇 许毅玲 马亚光



高等教育出版社

中科院植物所图书馆



S0017409

生 物 化 学

钟洪枢 关基石 主编

高等教育出版社出版
新华书店北京发行所发行
文字六〇三厂印装

开本 850×1168 1/32 印张 13.25 字数 330 000

1988年10月第1版 1990年8月第4次印刷

印数 17 071—18 590

ISBN 7-04-000765-7/Q·682

定价 3.20 元

林业出版社出版 广东教育学院 广州师范学院 广州师范学院 广州师范学院 广州师范学院

本书由钟洪枢、关基石同志任主编。全书共分十二章，其中

绪论、蛋白质代谢、物质代谢的相互联系和调节控制由广州教育

前言

五

本书是根据教育学院、卫星电视教育和师专的需要而编写，力求起点适中，文字简明易懂，每章有思考题，便于复习和自学。本书由钟洪枢、关基石同志任主编。全书共分十二章，其中绪论、蛋白质代谢、物质代谢的相互联系和调节控制由广州教育学院(广州师专)钟洪枢同志编写；糖类化学、脂类化学由广州师范学院关基石同志和武汉教育学院胡乾镇同志编写；蛋白质化学、核酸化学、酶学由广东教育学院刘聪生同志编写；维生素和辅酶由广州教育学院(广州师专)许毅玲同志编写；物质代谢和生物氧化、糖代谢、脂类代谢由肇庆师专(西江大学)古汉珠同志编写；核酸代谢由关基石同志和郑州教育学院马亚光同志编写。实验部分由关基石同志编写。

一九八六年七月，在广东教育学院召开本书的审稿会议，由华南师范大学程双奇教授任主审，参加审稿的同志有广西师范大学杨继华同志、华中师范大学梅尚筠同志、北京师范大学谢安琪同志、华东师范大学罗纪盛同志、广州师范学院关基石同志、长春教育学院郭玉勤同志、上海教育学院孙蕴璋同志、福建教育学院陈敏同志、高等教育出版社谭丽霞同志。会议期间，代表们认真细致地审阅全稿，提出中肯详细的修改意见。会议后，各编者根据审稿会议提出的修改意见进行修改，然后由审稿的同志分章进行再审。再由关基石同志对全书统改定稿。最后，程双奇教授又审阅全稿。对审稿同志的帮助指正，编者表示衷心感谢。

本书的编写工作得到高等教育出版社、广东教育学院和各审稿、编写同志所在院校的热情关怀和大力支持，在此一并致谢。

本书可供教育学院生物专业学员和卫星电视教育生物专业的学员使用，也可供师专作为教材和中学生物教师参考。

由于编者水平所限，本书肯定会有缺点和不足，请读者批评指正。

编者
1987年10月

02	绪论	1
06	第一章 糖类化学	4
82	第一节 糖类的概念	4
28	一、糖类的生物学意义	4
28	二、糖类的概念	5
82	三、糖的分类和命名	5
10	第二节 单糖的结构和性质	6
78	一、单糖的结构	6
08	二、单糖的性质	14
07	第三节 二糖的结构和性质	20
17	一、还原性二糖的结构和性质	20
82	二、非还原性二糖的结构和性质	21
78	第四节 多糖的结构和性质	23
78	一、同多糖	23
88	二、杂多糖	29
06	第二章 脂类化学	36
08	第一节 脂类的概念	36
82	第二节 脂肪的结构和性质	37
20	一、脂肪的结构	37
20	二、脂肪的性质	39
20	第三节 蜡	42
80	第四节 复合脂类的结构和性质	43
86	一、磷脂	43
00	二、糖脂	47
00	第五节 固醇	49

一、胆固醇(胆甾醇)	50
二、麦角固醇	50
第三章 蛋白质化学	52
第一节 蛋白质的概念	52
一、蛋白质的生物学意义	52
二、蛋白质的概念	52
三、蛋白质的分类	53
第二节 氨基酸的结构和性质	55
一、氨基酸的结构	55
二、氨基酸的分类	56
三、氨基酸的性质	61
第三节 肽	67
第四节 蛋白质的结构	69
一、蛋白质的一级结构	70
二、蛋白质分子的空间结构	71
三、蛋白质的结构与功能的关系	82
第五节 蛋白质的重要性质	87
一、胶体性质	87
二、蛋白质的两性解离及等电点	88
三、蛋白质的沉淀作用	90
四、蛋白质的变性	90
五、颜色反应	92
第四章 核酸化学	95
第一节 核酸的概念	95
一、核酸的生物学意义	95
二、核酸的种类和分布	96
第二节 核酸的组成成分	98
一、核糖及脱氧核糖	99
二、含氮碱	99

三、核苷	100
四、核苷酸	101
第三节 核酸的结构	103
一、核酸的一级结构	103
二、DNA 的二级结构	106
三、DNA 的三级结构	111
四、RNA 的构象(RNA 的二级结构和三级结构)	111
第四节 核酸的性质	114
一、一般性质	114
二、紫外吸收	116
三、变性、复性与分子杂交	117
四、核酸的制备和测定	120
第五节 核苷酸的衍生物	122
一、核苷 5'-多磷酸化合物	122
二、3',5'-环化的核苷酸	124
第五章 酶学	126
第一节 酶的概念	126
一、酶的生物学意义	126
二、酶的化学本质及其催化特点	127
三、酶的命名	128
四、酶的分类	129
第二节 酶的组成和结构	130
一、酶的组成	130
二、酶的结构	131
第三节 酶的特异性(专一性)	135
一、相对专一性	135
二、绝对专一性	136
三、立体异构专一性	136
第四节 酶的作用原理	137

1001	一、酶的催化作用与分子活化能的关系	137
101	二、中间产物学说	138
101	三、诱导契合假说	139
101	四、酶原激活	140
101	第五节 影响酶促反应的因素	142
111	一、酶浓度对酶促反应的影响	142
111	二、底物浓度对酶促反应的影响	142
111	三、温度对酶促反应的影响	144
111	四、pH 对酶促反应的影响	145
111	五、激活剂对酶促反应的影响	147
111	六、抑制剂对酶促反应的影响	148
101	第六节 酶的制备和应用	149
111	一、酶的制备	150
111	二、酶的活力测定	152
111	三、酶的应用	153
	第六章 维生素和辅酶	156
101	第一节 水溶性维生素与辅酶	156
101	一、维生素B ₁ 与焦磷酸硫胺素	156
101	二、维生素B ₂ 与黄素辅酶	158
101	三、维生素PP与辅酶I、辅酶II	160
101	四、泛酸和辅酶A	162
101	五、叶酸和叶酸辅酶	164
101	六、维生素B ₆ 和磷酸吡哆醛	165
101	七、生物素和羧化辅酶	167
101	八、维生素B ₁₂ 和B ₁₂ 辅酶	169
101	九、维生素C(抗坏血酸)	172
101	十、硫辛酸	173
101	第二节 脂溶性维生素	174
101	一、维生素A	174
101	二、维生素D	176

三、维生素E	178
四、维生素K	179
第七章 新陈代谢和生物氧化	182
第一节 新陈代谢的概念	182
一、新陈代谢的一般概念	182
二、分解代谢和合成代谢	182
三、新陈代谢的特点	183
第二节 生物氧化的涵义	183
一、生物氧化的概念	183
二、生物氧化的特点	184
三、生物氧化的生物学意义	184
第三节 生物氧化中水的生成	185
一、呼吸链的组成	185
二、呼吸链的类型和递体的顺序	189
第四节 生物氧化中二氧化碳的生成	190
一、直接脱羧反应	190
二、氧化脱羧反应	191
第五节 氧化磷酸化作用	191
一、氧化磷酸化概念	191
二、ATP的生成、转移、贮存和利用	191
三、氧化磷酸化作用机理——化学渗透学说	196
第八章 糖代谢	199
第一节 糖的分解代谢	199
一、糖的酶促降解	199
二、糖酵解途径	200
三、糖的有氧分解	205
四、磷酸戊糖途径	213
第二节 糖的生物合成	217
一、糖的异生作用	217

二、二糖的生物合成	219
三、糖原的生物合成	220
四、淀粉的生物合成	221
第九章 脂类代谢	224
第一节 脂肪的分解代谢	224
一、脂肪的酶促水解	224
二、甘油的分解代谢	225
三、脂肪酸的分解代谢—— β -氧化	225
四、酮体的生成和分解	230
第二节 三酰基甘油的生物合成	232
一、 α -磷酸甘油的生物合成	233
二、饱和脂肪酸的生物合成	233
三、三酰基甘油的生物合成	237
第三节 磷脂代谢	238
一、磷脂的酶促水解	240
二、磷脂的生物合成	240
第四节 胆固醇代谢	241
一、胆固醇的合成	241
二、胆固醇的转化和排泄	242
第十章 核酸代谢	244
第一节 核酸和核苷酸的分解代谢	245
一、核酸的酶促降解(解聚)	245
二、核苷酸的水解	246
三、嘌呤和嘧啶的分解	246
第二节 核苷酸的生物合成	249
一、嘌呤核糖核苷酸的生物合成	250
二、嘧啶核糖核苷酸的生物合成	254
三、单核苷酸转化成核苷三磷酸	256
四、脱氧核苷酸的生物合成	257
五、核苷酸合成的补救途径	259

第三节 DNA的合成	261
一、DNA的半保留复制	261
二、逆转录作用(RNA指导下的DNA合成)	278
三、DNA的损伤与修复	279
第四节 RNA的合成	282
一、转录(DNA指导的RNA合成)	283
二、RNA复制(RNA指导的RNA合成)	291
第十一章 蛋白质代谢	294
第一节 蛋白质的分解代谢	294
一、蛋白质的酶促降解	294
二、氨基酸的分解代谢	295
第二节 蛋白质合成代谢	308
一、氨基酸的生物合成	308
二、蛋白质的生物合成	310
第十二章 物质代谢的相互联系和调节控制	324
第一节 物质代谢的相互联系	324
一、糖代谢和脂肪代谢的相互联系	324
二、糖代谢和蛋白质代谢的相互联系	325
三、蛋白质代谢和脂肪代谢的相互联系	325
四、核酸代谢与糖、脂肪和蛋白质代谢的相互联系	326
第二节 代谢的调节	326
一、酶水平的调节	328
二、激素水平的调节	336
三、神经水平的调节	337
附录	339
实验	350
实验须知	350
实验一 蛋白质及氨基酸的呈色反应	351
实验二 蛋白质的沉淀反应及等电点的测定	359

实验三	福林(Folin)-酚试剂法测定蛋白质的含量	364
实验四	总氮量的测定	366
实验五	纸层析法分离氨基酸	374
实验六	醋酸纤维薄膜电泳法分离血清蛋白质	380
实验七	酵母RNA的分离及组分鉴定	384
实验八	酶的特性	386
实验九	维生素C的定量测定(2,6-二氯酚靛酚滴定法)	392
实验十	底物浓度对酶活性的影响(K_m 值测定)	396
实验十一	氨基移换反应——血清转氨酶活力的测定	402
实验十二	肌糖原的酵解作用	407
主要参考书	411

绪 论

生物化学是研究生命现象的化学本质的科学。它主要是运用化学、物理学和生物学的理论和方法研究生物体的化学组成和生命过程中化学变化的规律。

生命物质主要有糖类、脂类、蛋白质、核酸以及调节控制机体代谢的酶、激素、维生素和辅酶等。生物化学主要是研究这些物质的组成、结构、性质以及这些物质在有机体内发生的化学变化过程和能量转变方式;研究这些变化和复杂生命现象之间的关系,利用这些知识为社会主义建设和人类的健康服务。

由于研究的对象和目的不同,生物化学又有许多分支学科。研究物质的化学组成、结构和性质的称静态生物化学;研究生命物质的分解和合成代谢的称动态生物化学。根据研究的对象,可分为动物生物化学、植物生物化学、微生物生物化学、医学生物化学、农业生物化学、细胞生物化学、组织生物化学等。为了弄清遗传变异、机体的病变等生命现象,要从分子水平来解开生命之谜,生物化学进一步发展,便产生了新的学科——分子生物学。本书主要是介绍生物化学基本知识,可作为培训初中生物学教师的普通生物化学教材。

虽然生物化学是在生物学和化学基础上发展起来的一门科学,但生物化学又是各门生物科学的基础,特别是生理学、微生物学、遗传学和细胞学等各学科的基础。随着现代化学和其他学科如物理学、数学的不断渗入,新技术如X-光衍射、同位素示踪法、分光光度法、色谱法、电子显微镜、蛋白质和DNA自动分析仪和顺序分析仪的应用,使生物化学飞跃地发展。在生物化学基础上

形成了许多新兴的学科如酶工程和基因工程等。生物化学已成为推动生物科学发展的前沿学科之一。

生物化学是一门年轻的学科,在 19 世纪末和 20 世纪初,生物化学才成为一门独立的学科。“生物化学”这个名词是在 1903 年,由纽伯格(Neuberg)提出来的。从发展过程来看,生物化学起源于西欧,首先在德国,继而在法国、英国得到发展。北欧、北美、日本的生物化学最初都是从德国引入的。20 世纪 30 年代初期,我国生物化学的先驱吴宪教授(1893—1959)在生物化学的科学研究和教学方面做了大量工作,推动了我国生物化学的发展。

生物化学在我国有悠久的历史,在古代我国劳动人民便在饮食、酿酒、制饴、做酱、医药卫生等方面积累了丰富的生物化学知识,例如用麦曲酿酒制醋和治腹疾;用海藻治甲状腺肿;用猪肝治夜盲等。但由于漫长的封建制度的束缚和帝国主义的侵略,曾经在世界上处于领先地位的我国科学,反而落后于欧美日。解放后,我国生物化学在科学研究、教育和生产应用上都有蓬勃的发展,在研究蛋白质、酶、核酸、代谢、生物膜、激素等基础理论方面,以及在临床生化、维生素、营养、食品化学、血浆及其代用品、工业发酵、抗菌素、药理等生化应用方面都取得可喜的成绩。1965 年,我国人工合成具有生物活性的结晶牛胰岛素,是世界公认的第一个人工合成的具有全部生物活性的蛋白质;1981 年,人工合成具有天然活性的酵母丙氨酸转移核糖核酸,这些成果都已达到国际先进水平,通过生物化学工作者的努力,我国与先进国家的生物化学水平的差距正在缩短。

生物化学在医药卫生中的作用非常明显,它是医药卫生的重要理论基础。合理的营养,对增进人体的健康和延缓人体的衰老都有重要的作用。灵敏的生化诊断已成为确诊病因的一种有效手段。生物化学技术在生物制品和新药制备方面的应用,对防治某些严重危害人民健康的疾病起到关键性的作用。

生物化学和农、林、畜牧、渔业的关系是很密切的。植物营养要素的需求、光合作用机制、植物新陈代谢过程的调控。生物固氮等的研究,都要依靠生物化学;畜牧渔业方面,如何提高肉类蛋白质的含量和肉类加工等,也需要生物化学。因此,生物化学对农牧渔业的发展也都起着重要的作用。

生物化学在工业上主要应用于食品工业、发酵工业、制药工业、生物制品工业和皮革工业。生物化学不但是这些工业生产过程的理论基础,而且为改进这些工业的生产技术创造条件。生物化学与资源的开发利用也有密切的关系。

由于生物化学在生物科学中的地位和在社会主义建设中的作用,所以生物化学是生物专业学生必修的一门重要基础课。学习生物化学时,应对教材内容作全面的了解,从各类化学物质的组成结构出发,掌握它们的性质和功能,进而学习它们在生物体内的化学变化。学习生物化学要充分运用已学过的有机化学知识,并与生物学其他课程如生理学等联系,以促进理解,加强记忆。学习生物化学要理论联系实际,不仅要重视实验,多做实验,提高动手的能力,而且要与生物机体各种正常和异常的生命现象联系。学习生物化学还要与中学生物学教材中提到的各种生命现象相联系,这样才能学得深、记得牢,用得上,为提高中学生物课的教学质量服务。

第一章 糖类化学

糖类在自然界分布极广，特别是在植物中，糖类占其干重的85—90%。植物细胞壁的主要结构物质是纤维素；木材的主要成分也是纤维素；棉花几乎是纯纤维素。而淀粉则是植物储存的多糖；甘蔗和甜菜储存有丰富的蔗糖；水果含有葡萄糖和果糖等。

动物血液中含有葡萄糖(称为血糖)，肝脏和肌肉中含有糖原，乳汁中含有乳糖。

核糖和脱氧核糖是核糖核酸和脱氧核糖核酸的组成成分，存在于所有生物体中。

第一节 糖类的概念

一、糖类的生物学意义

糖类对于人类、动植物和微生物都很重要，它的主要生物学功能如下：

1. 糖类通过氧化反应为生物体的生命活动提供能量，是重要的生物能源。

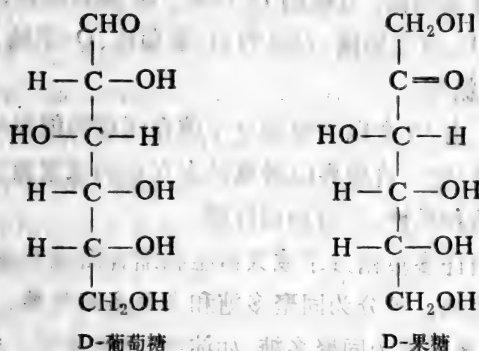
2. 糖类是生物体的重要结构成分。例如植物细胞壁的纤维素；昆虫甲壳的壳多糖；细菌细胞壁的肽聚糖。含氮的粘多糖存在于软骨、腱等结缔组织中，构成组织间质，也存在于关节液、眼球玻璃体和皮肤等组织中，具有组织润滑剂和阻滞微生物侵袭的作用。

3. 糖类在体内可提供合成脂肪、蛋白质和核酸的碳骨架。糖类是生物体合成脂肪、蛋白质和核酸等物质的基本原料。

4. 细胞表面的糖蛋白不但是生物膜的重要组分，而且是细胞识别功能的分子基础。

二、糖类的概念

糖类是多羟基醛或多羟基酮及其缩聚物和某些衍生物的总称。例如葡萄糖和果糖的链状结构式是：



由上述结构式可见，葡萄糖是六个碳原子的多羟基醛，称为己醛糖；果糖是六个碳原子的多羟基酮，称为己酮糖。

糖类主要是由碳、氢和氧三种元素组成，其分子式通常以 $C_n(H_2O)_m$ 表示， n 与 m 相等或不等。由于许多糖分子中氢和氧原子数之比是 2:1，刚好与水分子中氢氧原子数的比例相同，所以曾经把这类物质称为“碳水化合物”。后来发现有些化合物，如鼠李糖($C_6H_{12}O_6$)和脱氧核糖($C_5H_{10}O_4$)等，它们的结构和性质属于“碳水化合物”，但分子中氢氧原子数之比并不是 2:1；而有些化合物，如乙酸($C_2H_4O_2$)、乳酸($C_3H_6O_3$)等，它们的分子式虽然符合上述通式，但却不具有糖的结构和性质。因此把糖类称为“碳水化合物”并不恰当，但因沿用已久，所以至今仍然使用。

三、糖的分类和命名

根据糖类物质水解的情况，可分为三类：单糖、低聚糖和多糖。

(一) 单糖 不能被水解为更小分子的糖属于单糖。根据单糖所含的羰基的位置分为醛糖和酮糖两类。按分子所含碳原子数

目分别把三碳糖称为丙醛糖和丙酮糖，四碳糖称为丁醛糖和丁酮糖，相应的醛糖和酮糖是同分异构体。自然界的单糖以含四个、五个和六个碳原子的为最普遍。习惯上糖类物质多用俗名。如三碳的 D-甘油醛糖和甘油酮糖，五碳的 D-核糖、D-脱氧核糖、D-木(醛)糖、L-木酮糖、L-阿拉伯糖，六碳的 D-葡萄糖、D-果糖、D-甘露糖、D-及 L-半乳糖等。

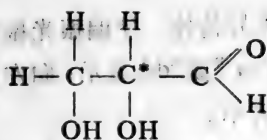
(二) 低聚糖 由 10 个以下单糖分子缩合而成的缩聚物称为低聚糖。又称寡(聚)糖。自然界以游离状态存在的低聚糖主要有二糖如麦芽糖、蔗糖和乳糖，三糖如棉籽糖。

(三) 多糖 由许多单糖分子或其衍生物缩合而成的高聚物称为多糖，又称高聚糖。可分为同聚多糖和杂聚多糖两类。由一种单糖缩合形成的多糖称为同聚多糖，如淀粉、纤维素等。由二种以上单糖或其衍生物缩合形成的多糖称为杂聚多糖，如存在于动物的透明质酸，存在于植物的树胶等。

第二节 单糖的结构和性质

一、单糖的结构

实物与其镜影不能重叠的特点称为“手征性”。任何一个不能和它的镜影完全重叠的分子，就称为手征性分子，一般来说，凡具有手征性的分子就有旋光活性。使有机物分子具有手征性的最普遍的因素是手征性碳原子。和四个不相同的原子或基团相连的碳原子称为手征性碳原子(过去称为不对称碳原子)。例如最简单的单糖——甘油醛分子中的 α -碳原子，在下式中用“*”号标出。它分别与 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-CH_2OH$ 和 $-CHO$ 相连，所以此 α -碳原子是手征性碳原子。



含一个手征性碳原子的化合物可以有二种构型，也就是连在 α -碳原子上的四个基团在空间有二种排列方式，如图1-1所示模型。假如使 $-\text{CHO}$ 向上，而将其他三个基团放在底面，则由 $-\text{OH}$ 经 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 至 $-\text{H}$ 的排列顺序可以有二种方式，在A中是按逆时针方向排列的，而在B中则是按顺时针方向排列的。A和B之间呈实物和镜影的关系，因此这样的异构体称为对映异构体。这一对对映异构体都是手征性分子，所以都有旋光活性。它们使偏振光的振动平面旋转的角度相同，但方向相反，这种现象称为旋光异

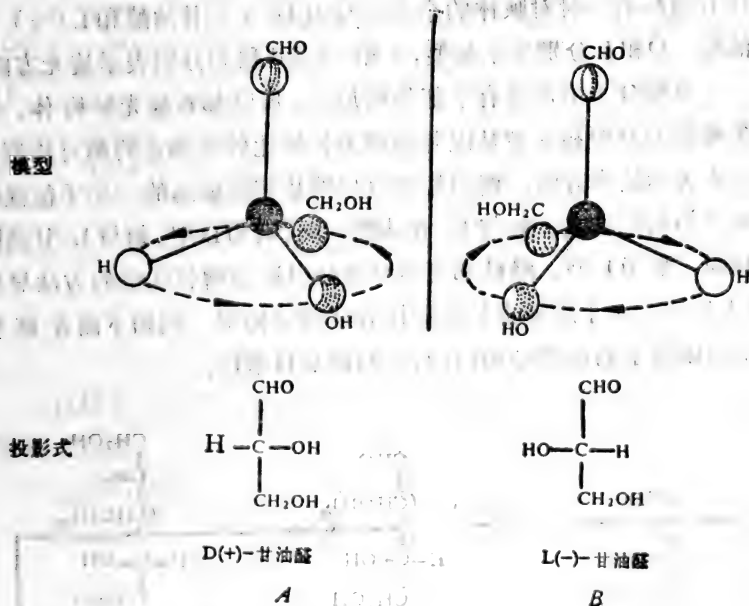


图 1-1 甘油醛的对映异构体

构现象。对映异构体又称为旋光异构体。使偏振光振动平面向右旋转(顺时针方向)的称右旋,用“+”或“d”表示;向左旋转(反时针方向)的称左旋,用“-”或“l”表示。

为了书写的方便,通常用投影式表示对映异构体各基团在空间的相对位置。投影时将碳链放在垂直线上,以垂直线相连的基团表示伸向纸后(即远离我们);以水平线相连的基团表示伸出纸面(即伸向我们),甘油醛的一对对映异构体的投影式表示于图1-1。

构型是指一个分子中诸原子或基团特有的固定的空间排列。对甘油醛的两种构型曾作了人为的规定,规定右旋甘油醛为D型,以手征性碳原子上的羟基是投影在右边的A式表示;左旋甘油醛为L型,以手征性碳原子上的羟基是投影在左边的B式表示。这样甘油醛的一对对映体的全名应写为D(+)-甘油醛和L(-)-甘油醛。D和L分别表示构型,+和-(或d和l)分别表示旋光方向。

单糖分子中都含有手征性碳原子,所以都有旋光异构体。糖类物质的D型和L型是以甘油醛为标准比较而确定的相对构型,并不表示旋光方向。糖的构型由与羰基相距最远的一个手征性碳原子的构型决定,如与D-甘油醛相同,则为D型,如与L-甘油醛相同,则为L型。醛糖都可由甘油醛以逐步增长碳链的方法导出(表1-1)。对于酮糖也是按同样方法确定构型。例如下面各糖括出的碳原子的构型是相同的,它们都是D型糖。

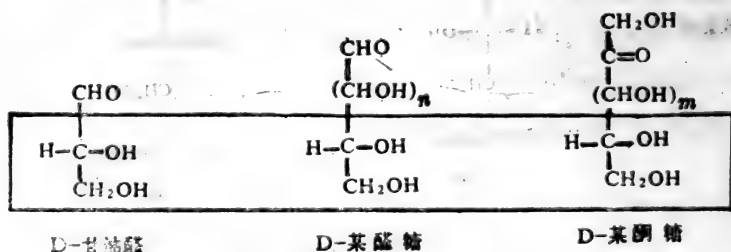
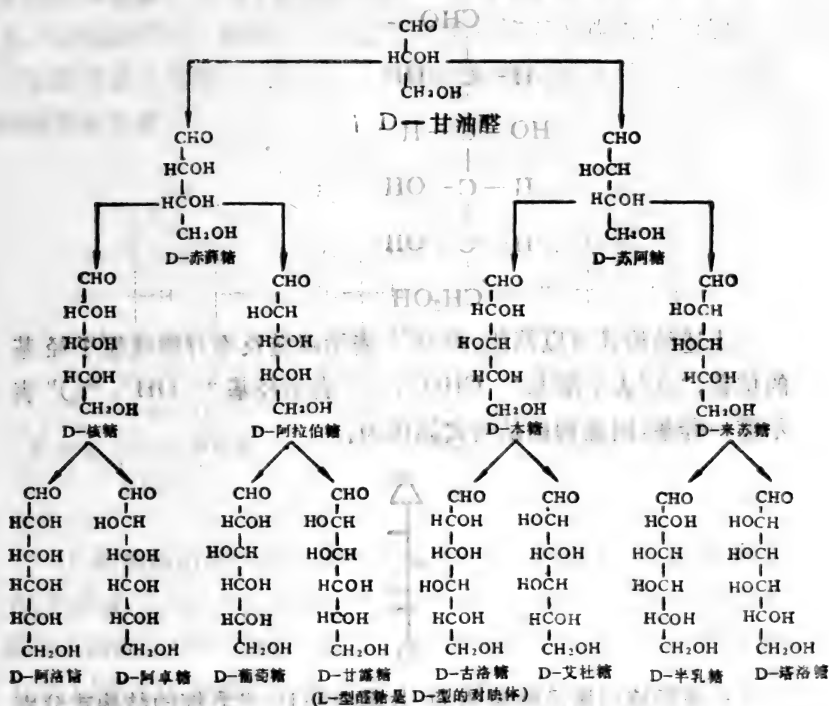


表 1-1 D-系醛糖(开链)



自然界存在的糖大都属于D型。自然界中的单糖主要是六碳糖和五碳糖。

己糖的结构

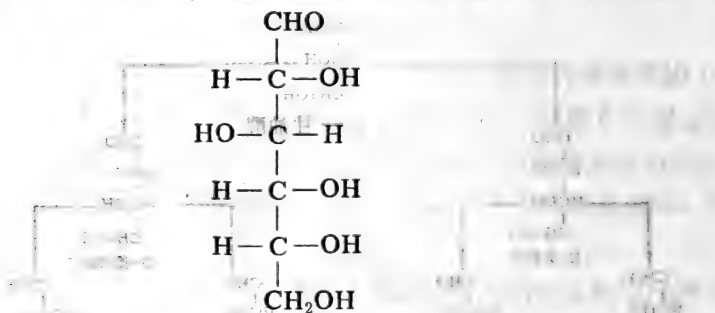
己糖中以 D-葡萄糖和 D-果糖与人类关系较为密切。

(一) 葡萄糖的结构

葡萄糖是己糖中最重要的一种,因为最初发现于葡萄,所以称为葡萄糖。其分子式是 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 。天然存在的是 D-葡萄糖。

1. 链状结构式

实验证明 D-葡萄糖的链状结构式是：



上述结构式可以简化，用“┐”表示碳链及不对称碳原子羟基的位置，“△”表示醛基“—CHO”，“—”表示羟基“—OH”，“○”表示第一醇基，则葡萄糖结构式简化为：



与葡萄糖同属己醛糖的 D-甘露糖和 D-半乳糖的结构式分别简化为：



D-甘露糖

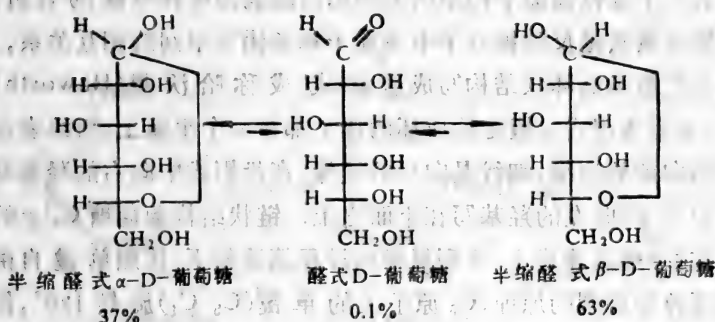


D-半乳糖

2. 环状结构

物理和化学的方法证明单糖不仅以直链结构存在，而且以环状结构存在。由于单糖分子中同时存在羰基和羟基，因而在分子

内便能由于生成半缩醛(或半缩酮)而构成环。即碳链上一个羟基中的氧与羰基的碳原子连接成环,羟基中的氢原子加到羰基的氧上。实验证明在一般情况下,己醛糖都是第五个碳原子上的羟基与羰基形成半缩醛,构成六元环。例如 D-葡萄糖可以形成下面两种环形半缩醛:



D-葡萄糖由醛式转变为半缩醛式时, C_1 转变为手征性碳原子, 并形成一对非对映旋光异构体。一般规定新形成的手征性碳原子上的羟基(称半缩醛羟基)与决定单糖构型的碳原子(在己糖为 C_5)上的羟基在碳链同侧者称为 α -型葡萄糖, 写作 α -D-葡萄糖; 不在同一侧者称为 β -型葡萄糖, 写作 β -D-葡萄糖。半缩醛羟基较其余羟基活泼, 糖的许多重要性质都与它有关。

葡萄糖的环状结构不仅有上述 C_1 与 C_5 通过氧原子相连接的 1-5 氧桥型, 而且还可以有 1-4 氧桥型。1-4 氧桥型的葡萄糖不稳定, 极活泼, 又称活性葡萄糖。在水溶液中葡萄糖大部分是 1-5 氧桥型。

具有含氧六元环结构的糖可以看成是吡喃的衍生物, 称为吡喃糖; 具有含氧五元环结构的糖可以看成是呋喃的衍生物, 称为呋喃糖。

单糖在水溶液中存在有链状结构与环状结构的互变平衡。环

状结构以吡喃型为主。 α -与 β -型的互变是通过醛式实现的。在D-葡萄糖水溶液形成的互变平衡体系中, α -D-吡喃葡萄糖约占37%, β -D-吡喃葡萄糖约占63%,而醛式(链式)D-葡萄糖仅占0.1%。

葡萄糖环状结构的投影式[或称费希尔(Fischer)式]虽然能表示各个手征性碳原子构型的差异和较圆满地解释单糖的性质,但不能较真实地反映糖分子中各原子和基团在空间的相互关系。所以常把糖类的环状结构写成透视式[或称哈沃思(Haworth)式]。书写透视式时假定构成环的原子都在一个平面上,粗线表示环平面向前的边缘,细线是向后的边缘,在投影式中向右的羟基写在平面之下,向左的羟基写在平面之上。链状结构葡萄糖 C_5 上的羟基与 C_1 醛基连成1-5型氧桥的过程简述如下,依照单键自由旋转不改变构型的原理, C_5 原子上的单键(C_5-C_4)旋转 120° ,使D-葡萄糖的末端 C_6 羟甲基转到平面之上,而 C_5 上的羟基转到与 C_1 醛基接近的位置,在平面上 C_5 上羟基的氧与羰基的 C_1 原子连接成环,而 C_5 上羟基的氢原子则加到羰基氧上,形成半缩醛羟基。在透视式中,D、L和 α 、 β 型的确定是以 C_5 上羟甲基和半缩醛羟基在含氧环上的排布来决定的。氧环上的碳原子按顺时针方向排列时,羟甲基在平面之上为D型。在D-型中半缩醛羟基在平面之下为 α 型,在平面之上为 β 型。D-葡萄糖透视式的写法如图1-2所示。

透视式也不能真实地反映出环形半缩醛式葡萄糖的真正三维空间结构,因为环上的五个碳原子和一个氧原子并不在一个平面上。吡喃糖环的形状与环己烷相似,也有船式和椅式两种构象,主要以比较稳定的椅式结构存在。 α -D-吡喃葡萄糖和 β -D-吡喃葡萄糖的构象式如图1-3。

(二) 果糖的结构

果糖是己酮糖,分子式是 $C_6H_{12}O_6$ 。果糖与葡萄糖是同分异

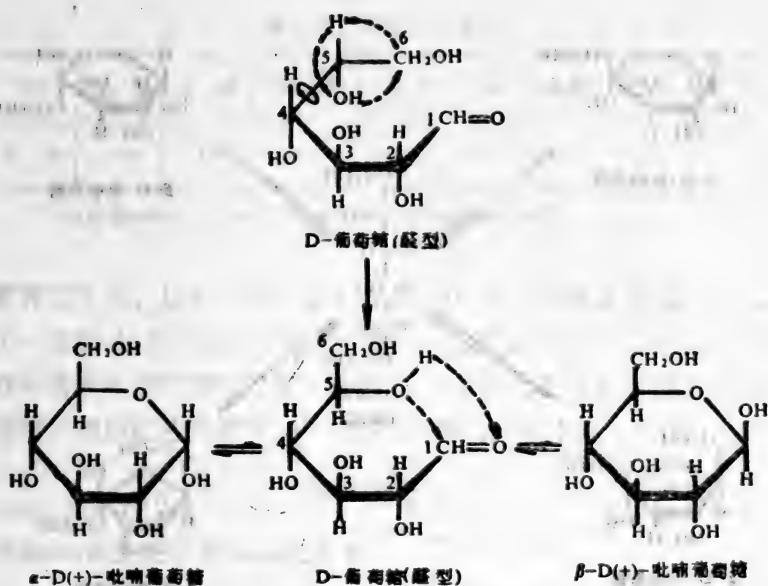


图 1-2 用透视式表示 D-葡萄糖的链状结构与环状结构的互变

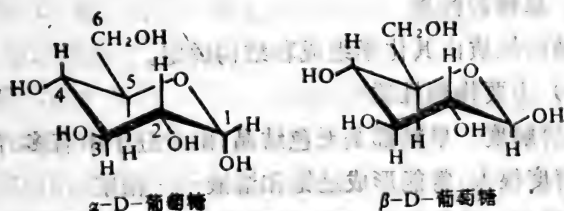


图 1-3 D-葡萄糖的椅式构象

构体。果糖也具有链状结构与环状结构。果糖的结晶是 2-6 氧桥形成的吡喃型,有 α 及 β 两种异构体,在水溶液中也存在环状结构和链状结构的互变平衡体系,而且在平衡混合物中还有两种 2-5 氧桥形成的呋喃型异构体(图 1-4)。

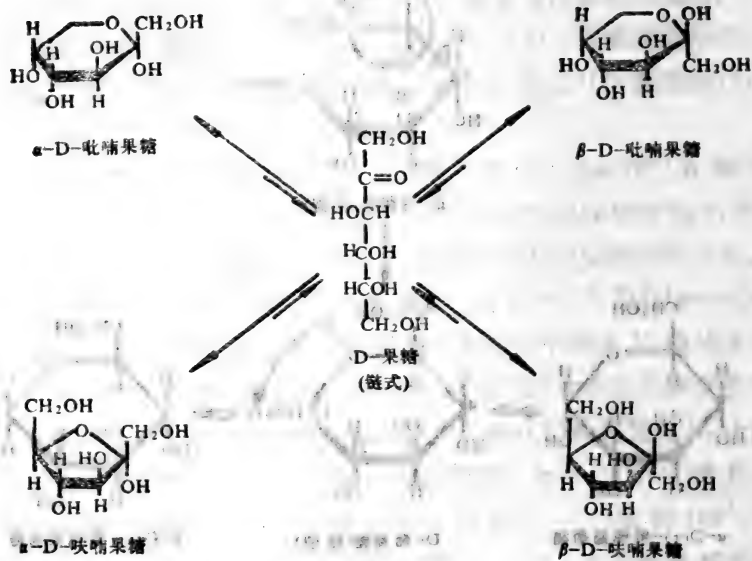


图 1-4 果糖环式和链式的互变平衡体系

二、单糖的性质

单糖的性质由其化学组成和结构决定。

(一) 主要物理性质

1. 溶解度 单糖都是无色结晶,由于分子中有多 个 羟基,在水中溶解度很大,常能形成过饱和溶液——糖浆。

2. 甜度 单糖都有甜味,但甜度各不相同,通常把 蔗糖的甜度定为 100 进行比较(表 1-2)。

3. 旋光性及变旋现象

一切糖类物质分子内都有手征性碳原子,所以都具有旋光性,属于“旋光活性物质”(或光学活性物质)。旋光活性物质使偏振光振动平面旋转的角度称为“旋光度”。物质旋光度的大小因测定时所用溶液的浓度、盛液管的长度、温度、光波的波长以及溶剂的性质

表 1-2 糖的相对甜度

糖	蔗糖	果糖	转化糖*	葡萄糖	木糖	麦芽糖	半乳糖	乳糖
甜度	100	173	130	74	40	32	32	16

* 由蔗糖水解生成的葡萄糖与果糖的混合物称为转化糖

质等而改变。但在一定的条件下,不同旋光活性物质的旋光度各为一常数,通常用比旋光度 $[\alpha]$ 表示。比旋光度的定义是,以1毫升中含有1克溶质的溶液,放在1分米长的盛液管中测出的旋光度。糖的比旋光度用 $[\alpha_D^{20}]$ 表示,计算公式如下,

$$[\alpha_D^{20}] = \frac{\alpha}{c \times l}$$

式中 α ,由旋光仪测得的旋光度。

c ,糖(光学活性的)溶液的浓度,以每毫升溶液中所含溶质的克数表示,溶剂为水。

l ,盛液管的长度,以分米表示。

20 , 20°C ,表示测定比旋光度在 20°C 进行。

D ,表示以钠光灯作光源。

从乙醇溶液结晶的 α -D-葡萄糖的水溶液比旋光度为 $+113.4^\circ$,经放置后比旋光度逐渐下降至 $+52.2^\circ$,其后不再改变。而从吡啶溶液结晶的 β -D-葡萄糖的水溶液比旋光度为 $+19^\circ$,经放置后比旋光度逐渐上升至 $+52.2^\circ$ 后不再改变。这是由于单糖溶于水后,环式结构的 α -型和 β -型与链式异构体间的互变,使新配成的单糖溶液,在放置过程中旋光度逐渐改变,但经过一定时间,几种异构体达成互变平衡后,旋光度就不再变化了。这种现象称为变旋现象。(复习葡萄糖环状结构的互变平衡表示式)

(二) 主要化学性质

单糖是多羟基醛或多羟基酮,所以具有醛基、酮基和醇羟基的

表 1-3 几种单糖的比旋光度*

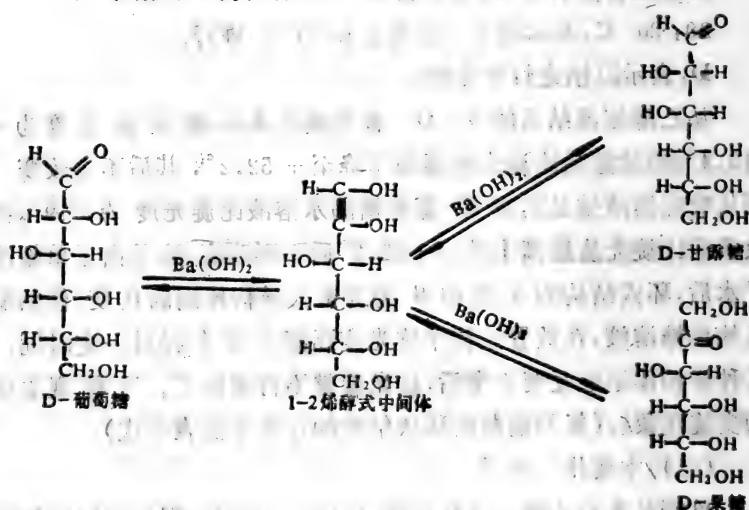
糖	α -型	平 衡	β -型
D-葡萄糖	+113.4	+52.2	+19.2
D-半乳糖	+144	+80	+15.4
D-甘露糖	+34	+14.6	-17
D-果糖	-21	-92.3	-133

* 糖的比旋光度数值各书略有出入，这是因为实验误差，或取近似值之故。

性质，能发生醇羟基的成酯、成醚等反应和羰基的氧化、还原和加成等反应，而且具有由于羟基与羰基相互影响而产生的一些特殊反应。单糖在水溶液中是以链式和环式平衡存在的，在某些反应中，其链式异构体参与反应，而环式异构体就继续不断地转变为链式，最后全部生成链式异构体的衍生物。单糖的主要化学性质如下：

1. 由醛基、酮基产生的性质

(1) 单糖的异构化作用

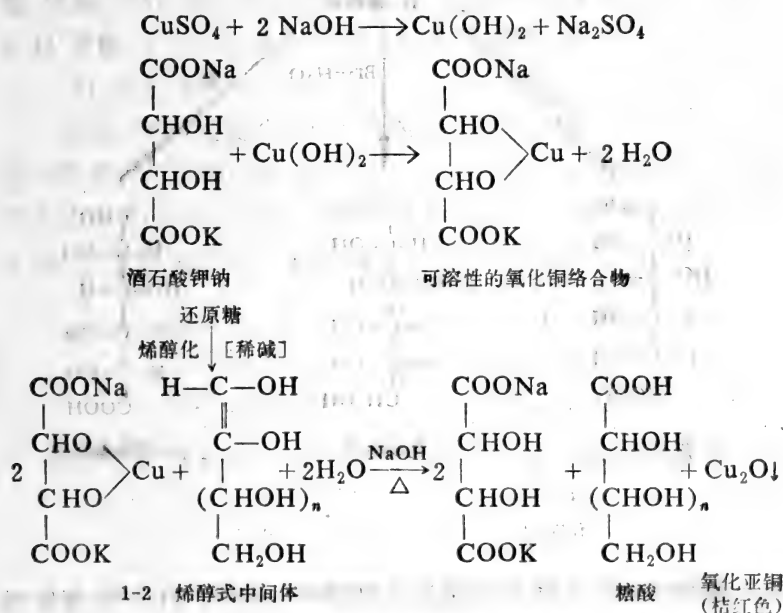


弱碱或稀强碱溶液能引起单糖的分子重排,形成某些异构体的平衡体系。例如在弱碱溶液中,D-葡萄糖、D-果糖和D-甘露糖三者可通过1-2 烯醇体而互相转化。在体内由于酶的作用也能进行类似的转化。

单糖在强碱溶液中很不稳定、分裂产生多种物质。

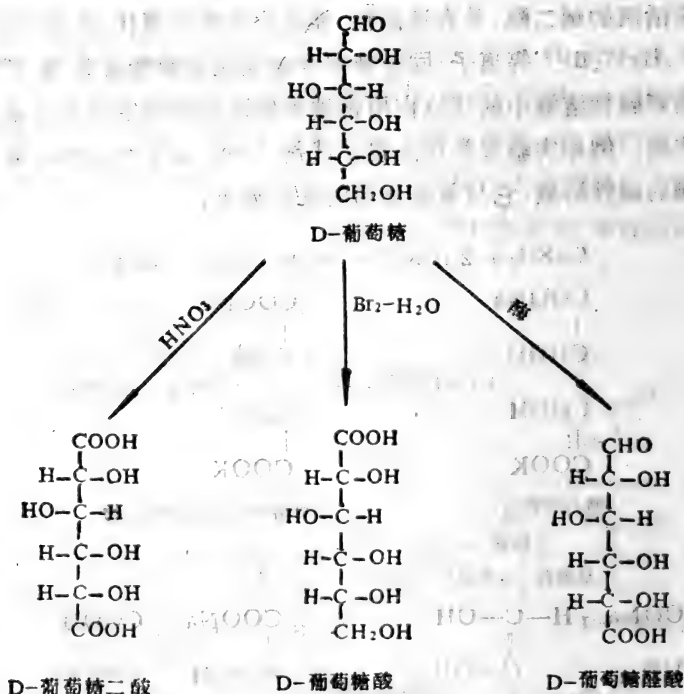
(2) 单糖的氧化(还原性)

单糖含有自由醛基或酮基,在碱性溶液中,醛基、酮基转变成非常活泼的烯二醇,具有还原性,能还原某些弱氧化剂,如 Cu^{2+} 、 Ag^+ 、 Hg^{2+} 、 Bi^{3+} 等离子,同时糖本身被氧化成糖酸及其他产物。糖类在碱性溶液中的还原作用常被用作还原糖的定性及定量测定的依据。例如实验室常用的费林试剂(Fehling's reagent)即为氧化铜的碱性溶液,它与单糖作用的反应如下:

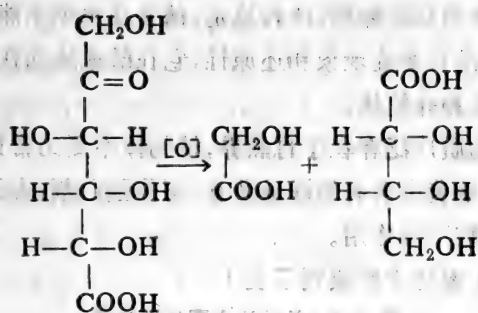


除了羰基之外,单糖分子中的羟基也能被氧化,因氧化条件不

同,单糖可被氧化成不同的产物。例如 D-葡萄糖被硝酸氧化成 D-葡萄糖二酸;被溴水氧化成 D-葡萄糖酸。而在生物体内,D-葡萄糖在特定的酶作用下被氧化成 D-葡萄糖醛酸,它是生物体内的一种解毒物质,能与某些有毒物质结合成 D-葡萄糖醛酸苷的形式而随尿排出体外。临床上用的肝泰乐即是葡萄糖醛酸制剂,是治疗肝炎的辅助药物。



酮糖不被溴水氧化,据此可鉴别醛糖与酮糖。但在强氧化剂作用下,酮糖在羰基处断裂,被氧化为两个酸。



D-果糖

乙醇酸

三羟基丁酸

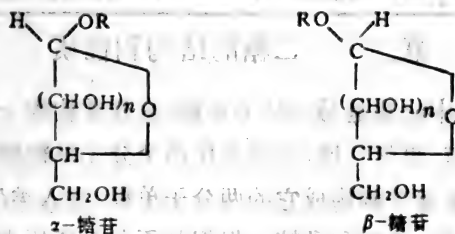
2. 由羟基(醇羟基和半缩醛羟基)产生的性质

(1) 成酯作用

单糖的一切羟基都可与酸结合成酯。生物化学上较重要的糖酯是磷酸酯,它们是糖代谢的中间产物。例如 D-甘油醛-3-磷酸、磷酸二羟丙酮、 α -D-葡萄糖-1-磷酸、 α -D-葡萄糖-6-磷酸、 α -D-果糖-6-磷酸、 α -D-果糖-1,6-二磷酸等。

(2) 成苷作用

环状结构的单糖分子的半缩醛羟基比其他醇羟基活泼,与其他含羟基的化合物如醇、酚等反应,失水而形成缩醛式衍生物,通常称为糖苷(即有机化学中的甙,又称配糖物)。由于单糖有 α -及 β -两型,故糖苷亦有 α -及 β -糖苷,可用下列通式表示:



式中R为非糖部分,称为配基或非糖体。糖苷的命名为 α -或 β -R基某糖苷。半缩醛糖基与配基的连接键称为糖苷键。

糖苷的性质接近缩醛,比较稳定,糖苷在水中不能再转化为链式,因此糖苷没有变旋现象和还原性,它在酸或酶的作用下可以水解成相应的糖和非糖体。

糖苷类物质广泛存在于自然界,植物体中更为常见,有的有药用价值,如洋地黄中含有的洋地黄苷,可作强心剂,杏仁中含的苦杏仁苷,有止咳平喘作用。

单糖的主要化学性质列于表 1-4。

表 1-4 单糖的主要化学性质

化学性质		反 应	重 要 性
由醛、酮基产生	异构化	在弱碱溶液中,单糖的醛、酮基通过烯醇化作用起分子重排	是单糖相互转化的基础
	氧化(还原性)	还原金属离子	是鉴定还原糖的基础
	还原成醇	醛、酮基可被还原成羟基	产生山梨醇、甘露醇等
	成 脎	和苯肼作用成脎	可鉴定、分离单糖
由羟基产生的化学性质	成 酯	形成磷酸糖酯及乙酰糖酯	磷酸糖酯是糖代谢的中间产物
	成 苷	单糖半缩醛羟基与其他含羟基的化合物缩合产生糖苷	糖苷键是由单糖缩合成寡糖和多糖的连接键。有些糖苷是药物
	氨基化	C ₂ 、C ₃ 上的羟基可被-NH ₂ 取代形成氨基糖	氨基糖是糖蛋白的组分
	脱 水	与浓HCl共热,戊糖产生糠醛,己糖产生糠醛衍生物	可用于鉴别醛糖和酮糖。有些产物在工业和医药上有用

第三节 二糖的结构和性质

如果糖苷中配基是另一分子单糖,这样结构的一类糖苷称为二糖,又称双糖,也就是说,二糖是由两个分子单糖缩合形成的化合物。二糖水解就得到构成它的两分子单糖。与人类生活关系密切的二糖有麦芽糖、蔗糖和乳糖。根据是否具有还原性可把二糖分为还原性二糖与非还原性二糖两类。

一、还原性二糖的结构和性质

还原性二糖是由一分子单糖的半缩醛羟基与另一分子单糖的醇羟基缩合而成的糖苷。由于作为配基的单糖仍然保留有半缩醛羟基,在水溶液中可以开环形成链式结构,存在有环式和链式结构的互变平衡,具有 α -型和 β -型两种环状异构体。所以还原性二糖具有一般单糖的性质,有变旋现象和还原性,并能与苯肼成脎。主要的还原性二糖有麦芽糖和乳糖。

(一) 麦芽糖

它大量存在于麦芽中,故称为麦芽糖。淀粉被淀粉酶水解可以产生一些麦芽糖,麦芽糖是饴糖的主要成分。麦芽糖易溶于水,甜度为蔗糖甜度的32%。

麦芽糖是由成苷的一分子 α -D-葡萄糖的半缩醛羟基与另一分子D-葡萄糖的C₄羟基缩合形成的二糖。这种糖苷键称为 α -1,4-糖苷键。 β -麦芽糖的透视式和构象式如图1-5所示。

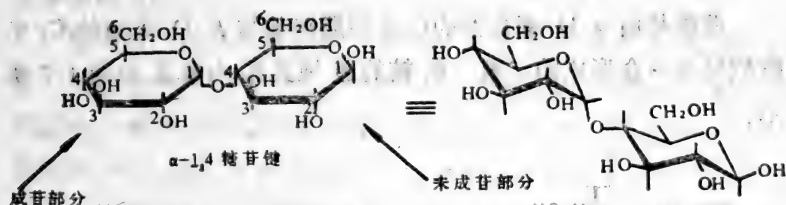


图 1-5 β -(+)-麦芽糖

(二) 乳糖

乳糖存在于人和哺乳动物的乳汁中,在人乳中的含量约为5—8%,在牛乳中的含量约为4—5%。乳糖在水中的溶解度较小,甜度为蔗糖甜度的16%。

乳糖是由成苷的一分子 β -D-半乳糖的半缩醛羟基与一分子D-葡萄糖的C₄羟基缩合形成的二糖。这种糖苷键称为 β -1,4-糖苷键。 α -乳糖的透视式和构象式如图1-6所示。

二、非还原性二糖的结构和性质

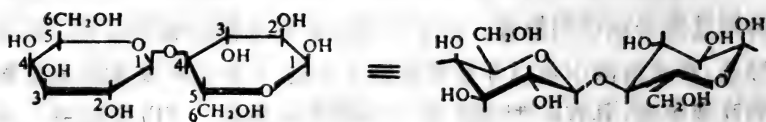


图 1-6 α -(+)-乳糖

非还原性二糖是由两个单糖的半缩醛(或半缩酮)羟基缩合而成的,两个单糖半缩醛羟基缩合都成为苷。这样形成的二糖分子中不再含有半缩醛羟基,所以就没有变旋现象和还原性,也不与苯肼作用。

蔗糖是自然界中分布最广也最重要的非还原性二糖。植物的果实、种子、根、茎和叶中都含有蔗糖。在甘蔗的茎和甜菜的块根中,蔗糖含量最多。蔗糖易溶于水,易结晶。蔗糖的甜度仅次于果糖。

蔗糖是由 α -D-葡萄糖的 C_1 半缩醛羟基与 β -D-果糖的 C_2 半缩酮羟基缩合形成的二糖。蔗糖的透视式和构象式如图 1-7 所示。

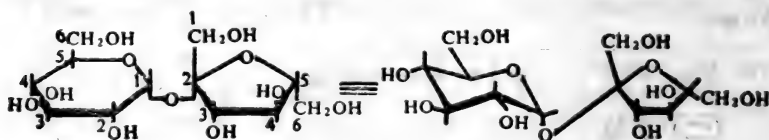


图 1-7 (+)-蔗糖

蔗糖是右旋糖,其水溶液的比旋光度为 $+66.5^\circ$ 。将蔗糖用稀酸或蔗糖酶水解后得到等量的葡萄糖和果糖的混合物,这个混合物水溶液的比旋光度为 -43.5° 。蔗糖的水解常被称为蔗糖转化作用,水解产物称为转化糖。转化糖的甜度比蔗糖高。蜂蜜的主要组分就是转化糖。

除上述三种二糖外,还有纤维二糖、海藻二糖、蜜二糖、松二糖和龙胆二糖等。其中纤维二糖是纤维素未完全水解的产物,海藻二糖存在于藻类、细菌、真菌、酵母等生物中。二者都由D-葡萄糖所组成,但两个葡萄糖的连接部位不同。

第四节 多糖的结构和性质

多糖是由十个以上到上万个单糖分子或单糖衍生物分子通过糖苷键连接而成的线性或带支链的高分子聚合物。多糖没有还原性和变旋现象,也没有甜味。多糖的分子量都很大,在水中不能成真溶液,有些多糖能与水形成胶体溶液。有许多多糖不溶于水。

多糖在自然界分布很广。植物的骨架——纤维素、植物贮藏的养分——淀粉、动物体内储藏的养分——糖原、人软骨中的软骨素、昆虫的甲壳、植物的粘液、树胶、细菌的荚膜等许多物质,都是由多糖构成的。

糖与蛋白质以共价键结合形成种类繁多的糖蛋白和蛋白多糖。它们分子中的糖对蛋白质的物理化学性质和生物学性质有重要影响。糖蛋白和蛋白多糖存在于生物膜、胞浆和间质中,对于细胞识别、细胞间的粘着、细胞分化和物质代谢都有重要作用。已经发现,许多酶、载体蛋白、激素、毒素、凝集素、结构蛋白等都是糖蛋白。对它们的糖基的结构和功能的研究形成了对糖研究的新高潮,对于生物化学、医学和工农业生产的发展都有深远的意义。

按多糖组分的繁简,可把多糖分为同多糖和杂多糖两类。同多糖由一种单糖或单糖衍生物组成。杂多糖由两种或两种以上的单糖或其衍生物所组成。

一、同多糖

同多糖中与人类生活关系最大的是淀粉、糖原和纤维素,它们的组成单位都是D-葡萄糖。而昆虫甲壳的主要成分壳多糖是由乙酰氨基葡萄糖以 β -1,4-糖苷键连接起来的同多糖。

(一) 淀粉的结构和性质

淀粉是植物贮存的养料,主要存在于种子(如谷物、豆类等)、块茎(如马铃薯、芋艿、慈姑等)和块根(如薯类)中。天然淀粉呈颗粒状,外层为支链淀粉,约占80—90%,内层为直链淀粉,约占10—20%,这两部分淀粉的结构和性质都有一定差异,直链淀粉的分子量比支链淀粉的分子量小(分子量大小与淀粉的来源及分离提纯的方法有关),它们在淀粉粒中的比例随植物的品种而异。有的淀粉粒(如糯米)全部为支链淀粉,而豆类的淀粉粒则全是直链淀粉。在显微镜下观察到的天然淀粉粒的外形也因植物的品种而异。

1. 直链淀粉的结构和性质

直链淀粉是由约300个D-葡萄糖以 α -1,4-糖苷键连接而成的链状化合物(见图1-8)。

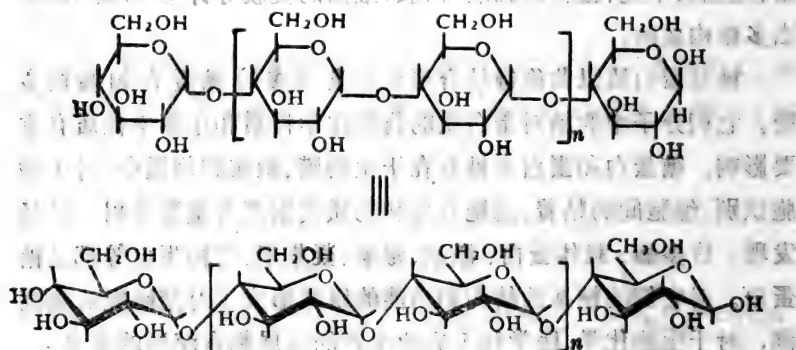


图 1-8 直链淀粉的结构

直链淀粉并不是线型分子,由于分子内的氢键使链卷曲成螺旋状,每一螺圈有六个葡萄糖单位(见图1-9)。直链淀粉遇碘显蓝色,原因是碘分子钻入了螺旋当中的空隙,碘分子与淀粉之间借范德华力联系在一起形成一种复合物,从而改变了碘原有的颜色而成为深蓝色。直链淀粉溶于热水形成胶体溶液。

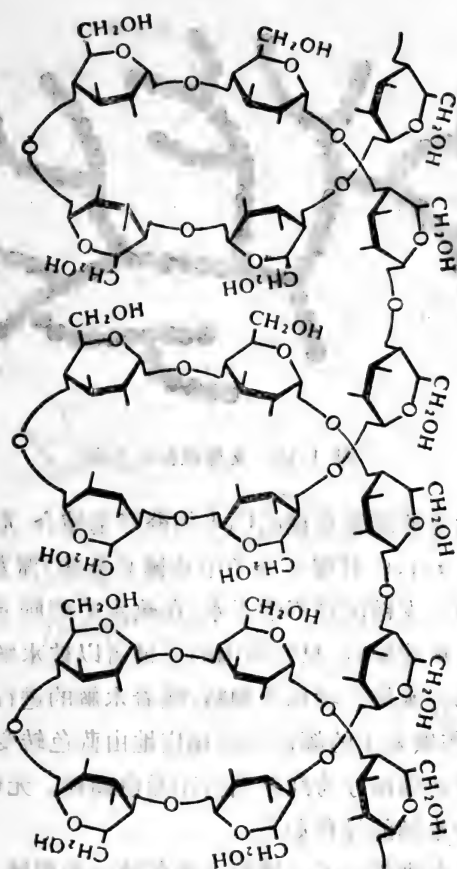


图 1-9 直链淀粉的螺旋形结构

2. 支链淀粉的结构和性质

支链淀粉由1300个或更多的D-葡萄糖组成,主链上大约相隔8—9个葡萄糖单位,有一个分支,分支上又再有分支,形成具有50个以上分支的树枝状结构(图1-10)。链上的葡萄糖单位之间以 α -1,4-苷键相连。在分支点,直链上的一个葡萄糖单位以其C₆羟基

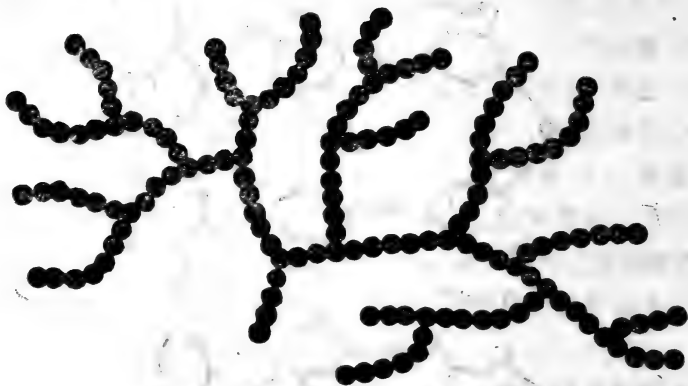


图 1-10 支链淀粉示意图

与另一短链的还原端葡萄糖的C₁半缩醛羟基缩合,形成 α -1, 6-苷键(图1-11)。 α -1, 6-苷键占分子中苷键总数的5%左右。支链淀粉遇碘呈紫色。支链淀粉不溶于水,在热水中膨胀而成糊状。用淀粉酶水解支链淀粉时,只有外围的支链可以被水解为麦芽糖。

淀粉的部分水解产物称为糊精,随着水解的进行,糊精的分子量逐步变小,与碘发生的颜色反应相应地由蓝色转变为红色,再变为无色,据此把糊精分为红色糊精和无色糊精。无色糊精有还原性。淀粉逐步水解的过程如下:

淀粉 \rightarrow 红色糊精 \rightarrow 无色糊精 \rightarrow 麦芽糖 \rightarrow 葡萄糖

(二) 糖原的结构和性质

糖原是动物细胞内贮存的多糖,因其结构和作用与植物的淀粉类似,所以又称为动物淀粉。存在于肝脏的称为肝糖原。存在于肌肉的称为肌糖原。

糖原也是由D-葡萄糖组成,结构与支链淀粉相似,但分支程度更高,分支点之间的间隔约为3—4个葡萄糖单位。 α -1, 6-苷键占分子中苷键总数的12—18%。每个分支的平均长度为12—18

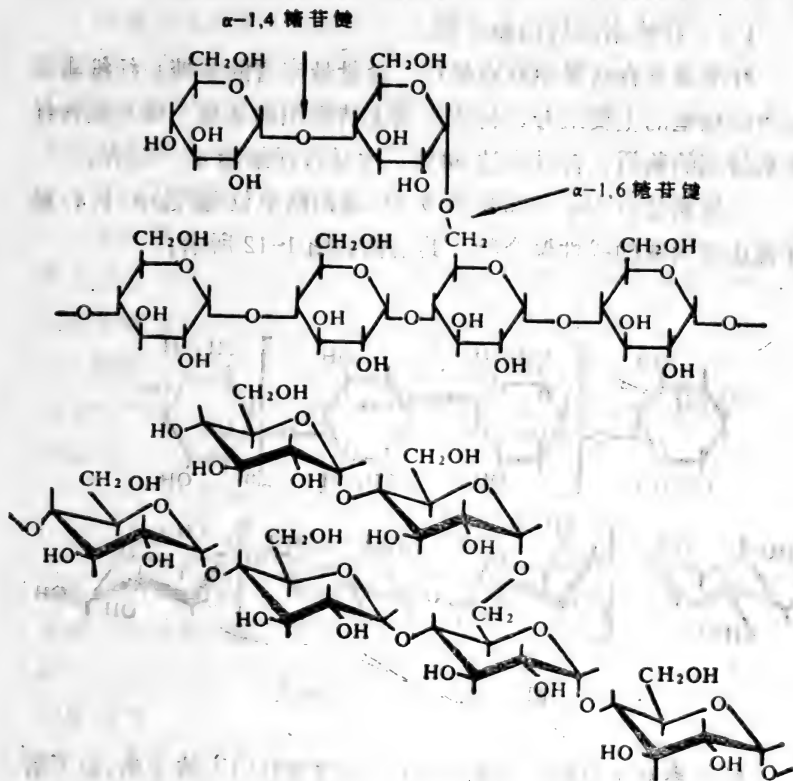


图 1-11 支链淀粉的结构

个葡萄糖单位。最大的糖原分子由几十万个葡萄糖单位组成，但仍能溶于水中。糖原遇碘显红色。

血液中的葡萄糖称为血糖。进食后血糖含量升高，合成糖原的作用增强，肝脏贮存的肝糖原可达其重量的 5% (总量为 90—100 克)，肌肉中贮存的肌糖原可达其重量的 1—2% (总量可达 200—400 克)。贮存的糖原可氧化分解，释放能量供机体利用。当血糖含量降低时，糖原又可水解为葡萄糖进入血液，再随血液

运输到机体的各器官组织,进入细胞,为机体提供能源。

(三) 纤维素的结构和性质

纤维素是自然界中分布最广、含量最丰富的多糖。纤维素是植物细胞壁的主要组分,构成植物支持组织的基础。棉花是含纤维素最高的物质,含量高达 98%。木材含纤维素 41—53%。

纤维素是由 300—2500 个 β -D-葡萄糖单位通过 β -1,4-糖苷键连接而成的线性聚合物。其结构如图 1-12 所示。

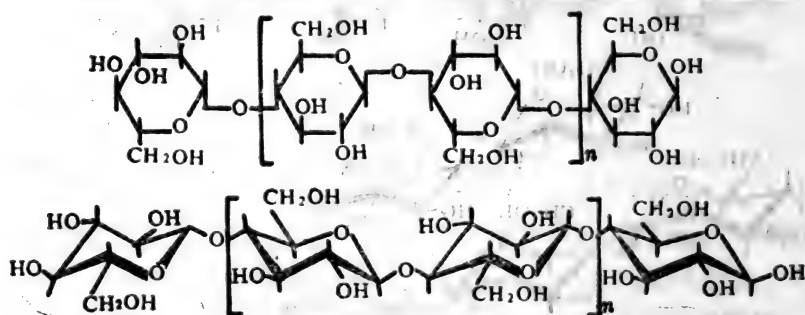


图 1-12 纤维素的结构式

纤维素对水有较高的亲和力(吸水性强),但不溶于水,也不溶于各种有机溶剂。纤维素在酸的作用下发生水解,经过一系列中间产物,最后产生大量的 β -D-葡萄糖,部分水解时产生纤维二糖。

人体内没有水解 β -1,4-糖苷键的酶,不能以纤维素为营养物质。但纤维素有刺激肠胃蠕动,促进排便,减少胆固醇的吸收等作用,因此食物中有一定量的纤维素对人体有好处。

大多数哺乳动物没有水解 β -1,4-糖苷键的纤维素酶,不能把纤维素消化为葡萄糖。但反刍动物的瘤胃里有多种微生物,能使纤维素水解产生葡萄糖,或使纤维素发酵变成乙酸、丙酸、丁酸等

低级脂肪酸然后被反刍动物吸收利用。

纤维素是重要的工业原料。棉花、竹、木材等可被纺织、建筑、造纸等工业直接利用。纤维素经过化学加工又可生产出人造丝、人造棉、玻璃纸、无烟火药、火棉胶、赛璐珞、电影胶片、纤维素离子交换剂等许多在工业生产、科学研究和日常生活中有用的物质。

二、杂多糖

由两种或两种以上的单糖或其衍生物组成的杂多糖，广泛存在于动植物中。在杂多糖的几种单糖组分中，常含有糖醛酸。许多杂多糖与非糖物质以一定方式相结合形成结合糖，例如糖蛋白、糖脂。结合糖有重要的生理功能和临床意义。对它们的结构、代谢和生物学作用的研究已成为生物化学研究的一个新的重要领域。

(一) 粘多糖

粘多糖是一类含氨基糖或氨基糖衍生物的杂多糖。例如透明质酸、硫酸软骨素、肝素和粘液素等。粘多糖常以一定方式与蛋白质相连构成糖蛋白。其中糖含量大大高于蛋白质含量的糖蛋白又称为蛋白多糖。蛋白多糖主要存在于软骨、腱等结缔组织中，构成组织间质。

粘多糖可分为几类：

第一类是中性粘多糖，由一种 N-乙酰己糖胺和一种己糖组成。例如免疫学上很重要的血型物质就属于这一类，它们与红细胞表面的膜蛋白结合成血型糖蛋白，糖链集中在膜外侧。

第二类是由一种 N-乙酰己糖胺和一种己糖醛酸组成的粘多糖。例如透明质酸是由 β -D-葡萄糖醛酸(1 \rightarrow 3) β -乙酰氨基葡萄糖(1 \rightarrow 4)的结构重复排列形成的直链多聚物。它是结缔组织中蛋白多糖的重要组分，也存在于眼球的玻璃体、角膜、细胞间质、关节液、恶性肿瘤组织和某些细菌壁中。

第三类粘多糖的结构比较复杂，组分中可以含有己糖、氨基糖

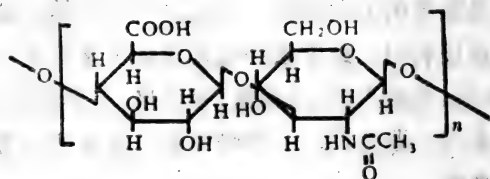


图 1-13 透明质酸

或N-乙酰氨基糖、己糖醛酸和糖的硫酸酯。因组分中的硫酸基在体内呈酸式解离，所以含硫酸基的粘多糖又称为酸性粘多糖。例如硫酸软骨素、粘液素和肝素等。

(1) 硫酸软骨素和硫酸角质

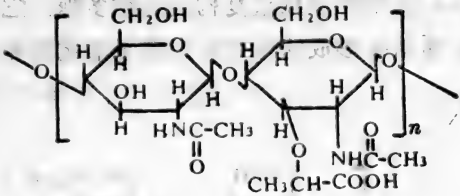
硫酸软骨素和硫酸角质是软骨蛋白多糖的重要组分。结缔组织、筋腱、皮肤、心瓣膜和唾液中也含有硫酸软骨素，它一般都与蛋白质结合成糖蛋白。硫酸软骨素有A、B和C三种，他们的组成及分布列于表1-5。

表 1-5 硫酸软骨素和硫酸角质的组成与分布

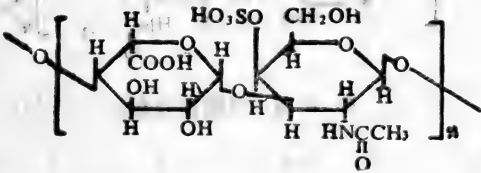
杂多糖	组成	分布
硫酸软骨素A	β -D-葡萄糖醛酸(1 \rightarrow 3)- β -N-乙酰氨基半乳糖-4-硫酸酯(1 \rightarrow 4)	软骨、骨、角膜
硫酸软骨素C	β -L-艾杜糖醛酸(1 \rightarrow 3)- β -N-乙酰氨基半乳糖-4-硫酸酯(1 \rightarrow 4)	皮肤、腱、心瓣膜
硫酸软骨素B	β -D-葡萄糖醛酸(1 \rightarrow 3)- β -N-乙酰氨基半乳糖-6-硫酸酯(1 \rightarrow 4)	软骨、腱
硫酸角质	β -D-半乳糖(1 \rightarrow 4)- β -N-乙酰氨基葡萄糖-6-硫酸酯(1 \rightarrow 3)	软骨、肋骨、椎间板

在婴儿的软骨和肋骨中几乎不含硫酸角质，随着年龄的增加，硫酸角质的含量也增加，直到20—30岁时硫酸角质的含量就稳定下来，约占软骨、肋骨粘多糖总量的50%。硫酸角质不受许多酶

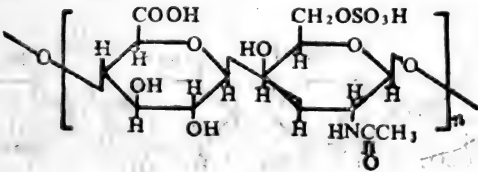
类的影响、如透明质酸酶、硫酸软骨素酶等都不能分解硫酸角质。
 这些粘多糖的结构式如下：



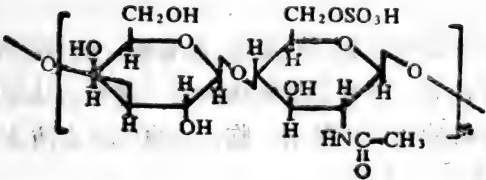
硫酸软骨素A



硫酸软骨素B (皮肤素)



硫酸软骨素C



硫酸角质

图 1-14 硫酸软骨素和硫酸角质

(2) 粘液素

粘液素是由 β -葡萄糖醛酸(1 \rightarrow 3)- β -乙酰氨基葡萄糖 6-硫酸酯(1 \rightarrow 4)的结构单位重复构成的粘多糖。它的粘度很大。粘液素与蛋白质结合形成的糖蛋白存在于消化道和呼吸道粘膜分泌的粘液中。

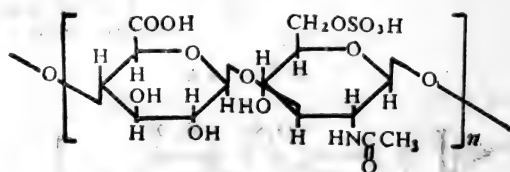


图 1-15 硫酸粘液素

(3) 肝素

肝素由艾杜糖醛酸-2-硫酸酯、葡萄糖醛酸、N-磺酰胺基葡萄糖-6-硫酸酯组成,其重复单位的可能结构如图 1-16 所示。

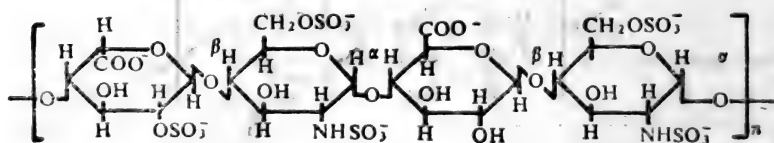


图 1-16 肝素

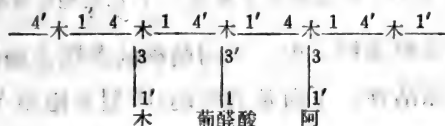
肝素广泛存在于肝、肺、肌肉、血管壁、肠粘膜等组织中,正常血液中几乎没有。肝素是动物体内的一种天然抗凝血物质,目前常用作输血时的血液抗凝剂,临床上也常用它防止血栓形成。

(二) 植物杂多糖

杂多糖也普遍存在于植物中,如半纤维素、树胶、海藻糖、琼脂等。他们的单糖成分常因来源不同而有差异。

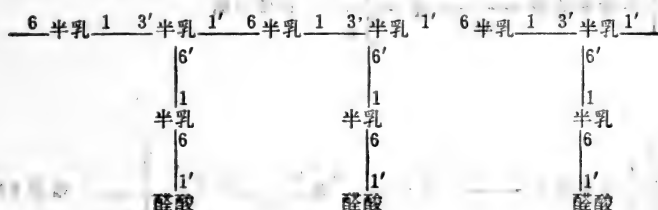
1. 半纤维素

半纤维素与纤维素、木质素总是同时存在于植物的细胞壁中。在植物的木质化部分，半纤维素的含量很丰富。不同来源的半纤维素的单糖成分有所不同，从水解产物来看，主要是木糖、阿拉伯糖、甘露糖、半乳糖和糖醛酸。小麦麦秸的半纤维素部分结构如下：



2. 树胶

天然的树胶是一些杂多糖的混合物。树胶的部分结构如下：



(三) 微生物杂多糖

在微生物体内及细菌细胞壁中含有许多种杂多糖。这部分仅扼要介绍作为细菌细胞壁组分的肽聚糖和抗原活性多糖。

1. 肽聚糖

肽聚糖是 β -N-乙酰氨基葡萄糖(1 \rightarrow 4)- β -N-乙酰胞壁(糖)酸(1 \rightarrow 4)组成的多糖链与肽连接形成的糖肽。肽聚糖的功用是保护细菌细胞使之不易被破坏。溶菌酶可破坏肽聚糖分子中的1,4-苷键。抗菌素能抑制肽聚糖的生物合成。肽聚糖的多糖链结构重复单位如图 1-17 所示：

2. 抗原活性多糖

细菌的抗原活性是由细胞壁表层的多糖物质决定的。从肺炎

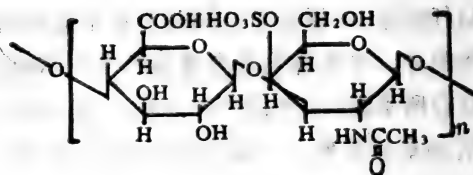
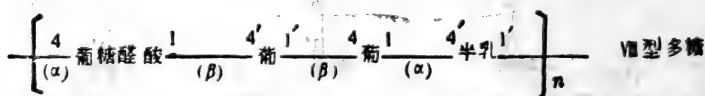
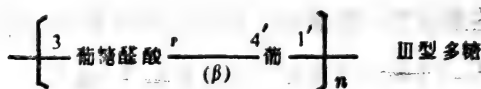


图 1-17 β -乙酰氨基葡萄糖-1,4-乙酰胞壁糖酸

球菌可分离出荚膜多糖。由于不同菌株的荚膜多糖结构不同，因而有不同的抗原活性。下面是荚膜的III型多糖和VIII型多糖的结构：



从一些对人体的肺、气管、口腔粘膜、皮肤、淋巴、脑、内脏有致病作用的十六属病原性真菌中分离出来的抗原活性多糖，绝大多数含有半乳糖、甘露糖，有的真菌多糖还含有葡萄糖、岩藻糖、鼠李糖和木糖。

思考题

- 1 糖是什么？有何生物学意义？
- 2 糖的 D-型、L-型； α -型、 β -型是怎样决定的？
- 3 写出 D-核糖和 D-2-脱氧核糖的 Fischer 和 Haworth 结构式。
- 4 葡萄糖、果糖和半乳糖的结构有什么不同？写出 α -D-吡喃葡萄糖、 α -D-呋喃果糖和 β -D-吡喃半乳糖的透视图式。

5. 写出自然界存在的D-己醛糖的链式结构式及相应的名称。
6. 葡萄糖酸、葡萄糖醛酸和葡萄糖二酸的结构及生成条件有什么不同?
7. 单糖有哪些重要的物理性质和化学性质?
8. 重要的二糖有哪些? 从结构上怎样区别还原二糖和非还原二糖?
9. 用什么试验可以鉴别还原糖和非还原糖?
10. 纤维素、淀粉和糖原的组成、结构和性质有何异同?
11. 何谓杂多糖? 重要的杂多糖有哪些?
12. 何谓糖蛋白和蛋白多糖? 它们有什么重要的生物学意义?

第二章 脂类化学

脂类化合物广泛地存在于动植物体内,如动物的猪油、牛油、奶油、鱼肝油;植物的芝麻油、菜籽油、棉籽油、花生油、蓖麻油和桐油等。脂类是构成原生质的重要组分,是生物膜的基质,也是动植物的贮能物质。动物的脂肪组织、肝脏、神经组织和油料植物种子中,脂类的含量特别丰富。

第一节 脂类的概念

脂类是一组在化学成分和化学结构上非均一的化合物,它们的共同特征是难溶于水,而溶于非极性溶剂。用乙醚、氯仿、苯等非极性溶剂可以将脂类化合物从细胞和组织中提取出来。脂类的这种特性主要是由构成它的碳氢结构成分所决定的。它们的结构的主要部分是长的烃链,可以是饱和的或不饱和的。

脂类分子都含有碳、氢、氧元素,有的还含有磷和氮。生物体内的脂类分子常与其他化合物结合在一起,如糖脂类含有糖分子和脂分子;脂蛋白类含有脂类和蛋白质。这些以混杂形式结合的生物分子兼有两种不同化合物的物理、化学性质,具有特殊的生物功能。

脂类有不同的分类方法。根据脂类的化学结构和组成,可把脂类分为简单脂类、复合脂类和类脂。

(一) 简单脂类: 脂肪酸与醇(甘油、高级一元醇)所生成的酯类。

1. 脂肪: 由一分子甘油与一至三分子脂肪酸所形成的酯。
2. 蜡: 高级脂肪酸与高级一元醇所形成的酯。

(二) 复合脂类：脂肪酸与醇(甘油、神经醇)所生成的酯，同时含有其他非脂性物质，如糖、磷酸及氮碱等。

1. 磷脂：含磷酸、氮碱的简单脂类衍生物，分甘油磷脂和神经醇磷脂等。

2. 糖脂：含有糖的脂类。

(三) 类脂：物理性质及物态与脂肪类似的物质。

1. 衍生脂类：水解天然存在的脂类所得到的类脂。

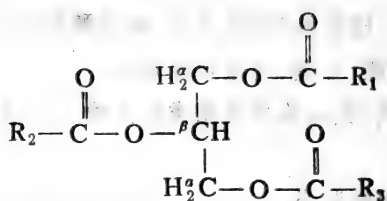
2. 固醇、类胡萝卜素等。

脂类具有重要的生物学功能。磷脂是生物膜的基质，使生物膜具有流动性、柔韧性、高电阻性和对高极性分子的不通透性。在机体表面的脂类有防止机械损伤和防止热量散发等保护作用。脂肪是重要的能源物质，每克脂肪完全氧化时释放 37,620 焦耳能量，是每克糖类释放能量的两倍。某些类脂，如维生素D、性激素、肾上腺皮质激素等对代谢调节有重要作用。脂肪是脂类的主要溶剂，对脂类物质的吸收、运输有重要作用。磷脂、糖脂和胆固醇等是神经组织的重要组成成分，而且在维持神经细胞的稳定性上有重要意义。类胡萝卜素、视黄醛等在生理过程中有重要作用。

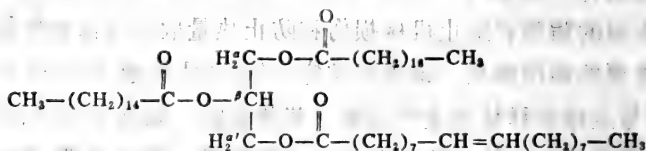
第二节 脂肪的结构和性质

一、脂肪的结构

脂肪是由一分子甘油与一至三分子脂肪酸所组成的酯。当甘油分子与一个脂肪酸分子缩合时，称为单酰甘油；当与二个脂肪酸分子缩合时，称为二酰甘油；当与三个脂肪酸分子缩合时，称为三酰甘油(即三酰基甘油酯，过去称为甘油三酯)。单酰甘油和二酰甘油在自然界存在的量极少，而三酰甘油则是脂类中含量最丰富的一类。通常所称的脂肪就是指三酰甘油。三酰甘油的结构如下：



若三个脂肪酸都是相同的,称为简单三酰甘油,命名时称为三某脂酰甘油,如三硬脂酰甘油、三油酰甘油等。若含有二个或三个不同的脂肪酸则称为混合三酰甘油,命名时以 α , β 和 α' 分别表示不同脂肪酸的位置,例如 α -硬脂酰- β -软脂酰- α' -油酰甘油,其结构如下:



自然界的脂肪中多数是多种混合三酰甘油的混合物。例如组成牛油的脂肪酸有丁酸、己酸、辛酸、癸酸、月桂酸、豆蔻酸、软脂酸、硬脂酸和油酸等。天然脂肪中简单三酰甘油极少,仅橄榄油和猪油含三油酰甘油较高,约占 70%。

天然脂肪中脂肪酸的种类很多,分布最广的有 16 碳的软脂酸、18 碳的硬脂酸和 18 碳的一烯酸——油酸。天然脂肪中的脂肪酸都是偶数碳的脂肪酸,其中有饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸(表 2-1),还有个别羟酸和环酸。

表 2-1 的缩写符号中,冒号前的数字为脂肪酸的碳原子数,冒号后的数字为双键数,用“ Δ ”代表双键,将双键的位置写在“ Δ ”的右上角。

哺乳动物体内能够合成饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸,但不能合成亚油酸、亚麻酸等,我们把维持哺乳动物正常生长所需的而体内又不能合成的脂肪酸称为必需脂肪酸。

表 2-1 某些天然存在的脂肪酸

类型	俗 名	缩写符号	分 子 式	熔点℃
饱和脂肪酸	月桂酸	12:0	$C_{11}H_{23}COOH$	44
	豆蔻酸	14:0	$C_{13}H_{27}COOH$	54
	软脂酸	16:0	$C_{15}H_{31}COOH$	63
	硬脂酸	18:0	$C_{17}H_{35}COOH$	70
	花生酸	20:0	$C_{19}H_{39}COOH$	76.5
	掬焦油酸	24:0	$C_{23}H_{47}COOH$	86
不饱和脂肪酸	油 酸	18:1 ⁴⁹	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$	13.4
	亚油酸	18:2 ^{49,12}	$CH_3(CH_2)_4CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_4COOH$	-5
	亚麻酸	18:3 ^{49,12,18}	$CH_3CH_2CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_3COOH$	-11
	花生四烯酸	20:4 ^{49,8,11,14}	$CH_3(CH_2)_4CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_3COOH$	-50

二、脂肪的性质

(一) 物理性质

脂肪一般无色、无臭、无味，呈中性。天然脂肪因含杂质而常具有颜色和气味。脂肪比重皆小于1，不溶于水而溶于有机溶剂中。在乳化剂如胆汁酸、肥皂等存在的情况下，脂肪能在水中形成乳浊液。在人体和动物的消化道内，胆汁酸盐使脂肪乳化形成乳糜微粒，有利于脂肪的消化吸收。

由于不饱和脂肪酸的熔点比相应的饱和脂肪酸低，所以一般三酰甘油中，不饱和脂肪酸含量较高者在室温时为液态，俗称为油，如棉籽油的脂肪酸组分中饱和脂肪酸占25%，不饱和脂肪酸占75%。而饱和脂肪酸含量高的三酰甘油在室温时通常为固态，俗称为脂。如牛油又称牛脂，其脂肪酸组分中饱和脂肪酸约占60—70%，不饱和脂肪酸占30—40%。天然脂肪都是多种脂肪的混合物，所以没有恒定的熔点和沸点。通常把天然脂肪简称为油脂。

脂肪是生物体内的一类重要溶剂，许多与生命活动有密切关

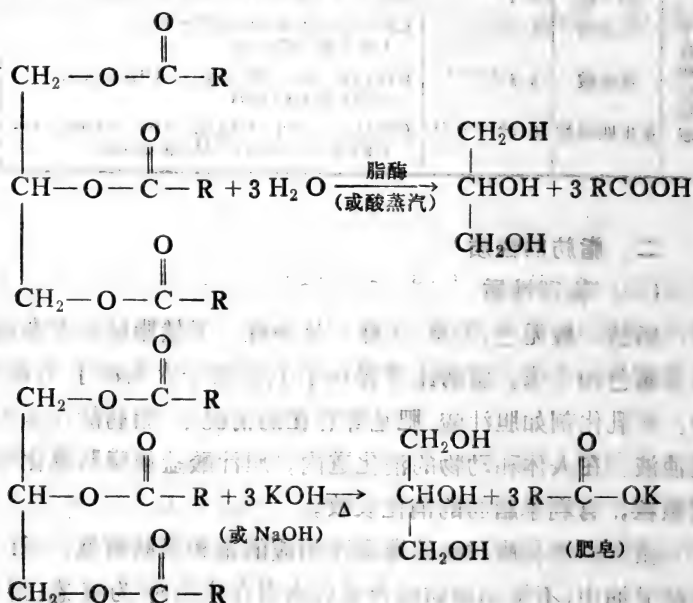
系的物质均溶于其中而被吸收和运输,如各种脂溶性维生素(维生素 A、D、E、K)、芳香油、固醇和某些激素等。

(二) 化学性质

脂肪的化学性质与组成它的脂肪酸、甘油以及酯键有关。

1. 水解和皂化

脂肪能在酸、碱、蒸汽及脂酶的作用下水解,生成甘油和脂肪酸。当用碱水解脂肪时,生成甘油和脂肪酸盐。脂肪酸的钠盐和钾盐就是肥皂。因此把脂肪的碱性水解称为皂化。



使 1 克脂肪完全皂化所需要的氢氧化钾的毫克数称为皂化值。根据皂化值的大小可以判断脂肪中所含脂肪酸的平均分子量。皂化值越大,脂肪酸的平均分子量越小。

$$\text{脂肪酸平均分子量} = \frac{3 \times 56 \times 1000}{\text{皂化值}}$$

式中 56 是 KOH 的分子量;由于中和 1 摩尔三酰甘油的脂肪酸需

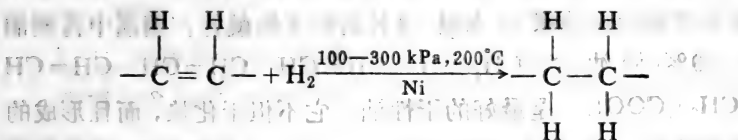
要 3 摩尔 KOH, 故乘以 3。

肥皂是高级脂肪酸钠(或钾), 既含有极性的 COO^-Na^+ 基团, 易溶于水; 又含有非极性的碳链较长的烃基部分, 易溶于脂溶性溶剂, 因此肥皂属于乳化剂, 可使油污溶于水而去污垢。当用含有很多钙离子和镁离子的硬水洗涤时, 由于脂肪酸钠(或钾) 转变为不溶于水的钙盐和镁盐而沉淀, 肥皂的去污能力就大大降低。

2. 加成反应

含不饱和脂肪酸的脂肪, 分子里的碳-碳双键可以与氢、卤素等进行加成反应。

(1) 氢化: 在高温、高压和金属镍催化下, 脂肪分子中不饱和脂酰基的双键与氢发生加成反应, 转化为含饱和脂肪酸的脂。



氢化的结果使液态的油转变为半固态的脂, 所以这种氢化也常称为“油脂的硬化”。人造黄油的主要成分就是氢化的植物油。某些高级糕点的松脆油也是适当加氢硬化的植物油。

(2) 卤化: 卤素中的溴、碘可与不饱和脂酰基的双键加成, 产生饱和的卤化脂, 这种作用称为卤化。通常把 100 克油脂所能吸收的碘的克数称为“碘值”。碘值大, 表示油脂中不饱和脂肪酸的含量高, 或不饱和程度高。由于碘和碳-碳双键的加成作用较慢, 所以在实际测定中常用溴化碘或氯化碘代替碘, 其中的溴原子或氯原子能使碘活化。

3. 酸败

油脂在空气中放置过久, 会败坏而产生难闻的臭味, 这种变化称为酸败。酸败是由空气中氧、水分或霉菌的作用而引起的。酸败的化学本质是油脂水解放出游离的脂肪酸, 不饱和脂肪酸氧化

为过氧化物



再裂解成小分子的醛或酮。低分子

量的脂肪酸(如丁酸)、醛和酮常带有刺激性酸臭味。

酸败程度的大小用酸价表示。酸价就是中和 1 克油脂中的游离脂肪酸所需的 KOH 毫克数。酸价是衡量油脂质量的指标之一。

4. 干化

某些油在空气中放置,表面能生成一层干燥而有韧性的薄膜,这种现象叫做干化。具有这种性质的油称为干性油。油干化的化学本质还不十分清楚,一般认为,如果组成油脂的脂肪酸中,含有较多的共轭体系的碳-碳双键,这样的油干性就好。桐油中含桐油酸达 79%(桐油酸: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$),是最好的干性油,它不但干化快,而且形成的薄膜韧性好,并能耐冷、热和潮湿,在工业上有重要价值。我国的桐油产量丰富,在世界上占有相当重要的地位。

第三节 蜡

蜡是高级脂肪酸与高级一元醇所形成的酯。蜡中最常见的酸是软脂酸和二十六酸,最常见的醇是十六醇、二十六醇及三十醇。

蜡在室温时比油脂硬而脆,温度稍高时蜡变为柔软的固体。不溶于水。

蜡的性质稳定,在空气中不易变质,难于皂化。

天然蜡中除高级脂肪酸的高级醇酯外,还含有少量游离高级脂肪酸、高级醇和烃。有的是许多高级一元醇酯的混合物(如蜂蜡)。由于天然蜡是混合物,所以无恒定的熔点。根据来源分为动物蜡和植物蜡,后者的熔点较高。

蜡在茎、叶、果实表面、皮肤、毛皮、羽毛以及许多昆虫的外骨

酪上都起保护作用。

虫蜡也称为白蜡,为我国特产,是寄生于女贞树上的白蜡虫的分泌物,主要产地在四川。它的熔点高,硬度大。蜂蜡是由工蜂腹部的蜡腺分泌出来的蜡,是建造蜂巢的主要物质。羊毛脂也属于蜡的范围之内,它的主要组分是羊毛甾醇、二十六醇等高级醇及其酯,并含有一些游离脂肪酸及烃。由于它较易吸收水分,并有乳化作用,故多用于高级化妆品及医药上制造软膏。

第四节 复合脂类的结构和性质

复合脂类是脂肪酸与醇(甘油、神经醇)所生成的酯,同时含有其他非脂性物质,如糖、磷酸及氮碱等。

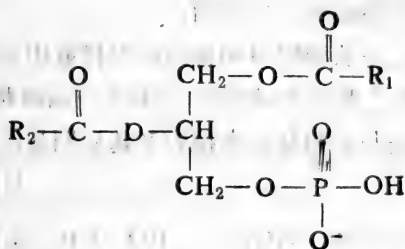
一、磷脂

(一) 磷脂的结构和性质

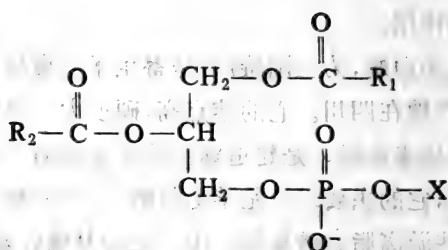
磷脂是含磷酸、氮碱的简单脂类衍生物,分甘油磷脂和神经醇磷脂等。

1. 甘油磷脂类的结构和性质

甘油磷脂又称磷酸甘油酯,是磷脂酸的衍生物。甘油磷脂种类繁多,结构通式如下:



3-磷脂酸

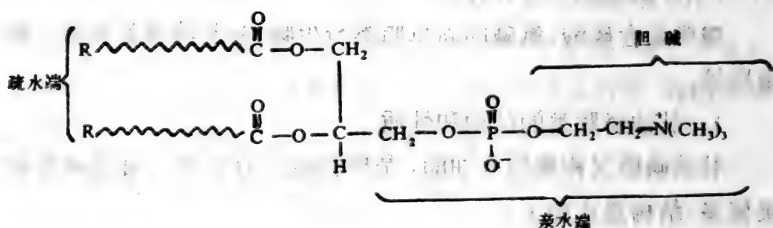


甘油磷脂的通式

式中X表示氮碱或其他基团(如肌醇)。

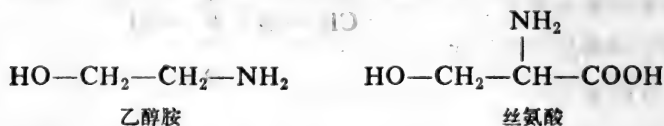
甘油磷脂中最常见的是卵磷脂和脑磷脂。动物的心、脑、肾、肝、骨髓以及禽蛋的卵黄中,这二种磷脂的含量都很丰富。大豆磷脂是卵磷脂、脑磷脂和心磷脂等的混合物。

α -卵磷脂的结构示意如下:



α -卵磷脂分子中与磷脂酸相连接的X基是胆碱,所以称为磷脂酰胆碱,又称胆碱磷酸甘油酯。

脑磷脂最是从脑组织和神经组织提取出来,所以称为脑磷脂。包括磷脂酰乙醇胺和磷脂酰丝氨酸。脑磷脂的结构与 α -卵磷脂相似,只是与磷脂酸相连接的X基分别是乙醇胺或丝氨酸。



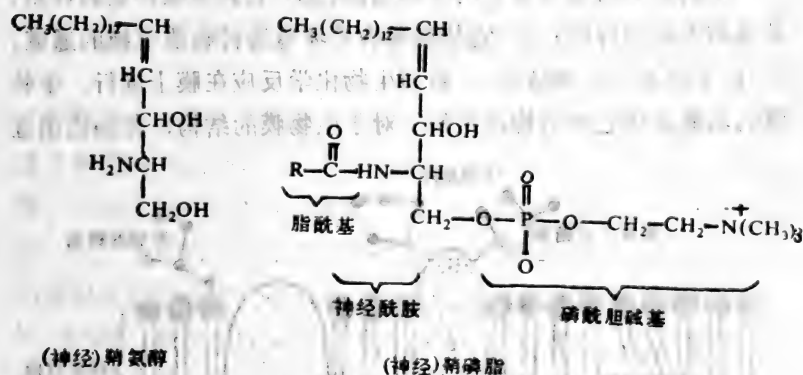
磷脂中的高级脂肪酸常见的是软脂酸、硬脂酸、油酸及少量不

饱和程度高的脂肪酸。通常 α 位的脂肪酸是饱和的脂肪酸, β 位的是不饱和脂肪酸。天然磷脂常常是含有不同脂肪酸的几种磷脂的混合物。

卵磷脂和脑磷脂的性质相似,都不溶于水及丙酮,而易溶于氯仿、乙醚等有机溶剂,可以由动物的新鲜大脑及大豆中提取。由于卵磷脂可溶于乙醇而脑磷脂不溶于乙醇,故可用乙醇把脑磷脂从二者的混合提取液中沉淀出来。二者的新鲜制品都是无色的蜡状物,有吸水性,在空气中放置易变为黄色进而变为褐色,一般认为此颜色变化是由于分子中不饱和脂肪酸受氧化所致。

3. [神经]鞘磷脂的结构和性质

[神经]鞘磷脂由[神经]鞘氨醇(简称神经醇)、脂肪酸、磷酸与氮碱组成。其结构如下式所示:



在[神经]鞘磷脂分子中,脂酰基与[神经]鞘氨醇的氨基以酰胺键相连,所形成的脂酰鞘氨醇又称为神经酰胺;[神经]鞘氨醇的伯醇基与磷酸胆碱基(或磷酸乙醇胺基)以磷酸酯键相连。

在[神经]鞘磷脂中发现的脂肪酸有软脂酸、硬脂酸、掬焦油酸、神经烯酸($24:1^{\Delta 15}$)等。

[神经]鞘磷脂不溶于丙酮、乙醚，而溶于热乙醇。

自然状态的磷脂都有二条比较柔软的长碳氢链，因而具有脂溶性质；而磷脂的另一组分是磷酰化物，它是强亲水性的极性基团，使磷脂可以在水中扩散成胶体，因此具有乳化性质。磷脂能够帮助不溶于水的脂质均匀扩散于体内的水溶液体系中。

(二) 磷脂与生物膜

细胞及各种细胞器的表面都覆盖着一层极薄的膜，统称为生物膜。生物膜主要由脂类与蛋白质组成。脂类约占 40%，蛋白质约占 60%。但是不同种类的生物膜所含脂类与蛋白质的比例变化很大，如线粒体内膜只含有 20—25% 的脂类，而有些神经细胞表面的髓磷脂膜含脂类高达 75%。构成生物膜的脂类种类很多，其中最主要的是甘油磷脂类，也有一些糖脂和胆固醇。

生物膜具有极其重要的生物功能：① 它具有保护层的作用，是细胞表面的屏障；② 它是细胞内外环境进行物质交换的通道；③ 许多酶系与膜相结合，一系列生物化学反应在膜上进行。生物膜的功能是由它的结构决定的。对于生物膜的结构，曾经提出过

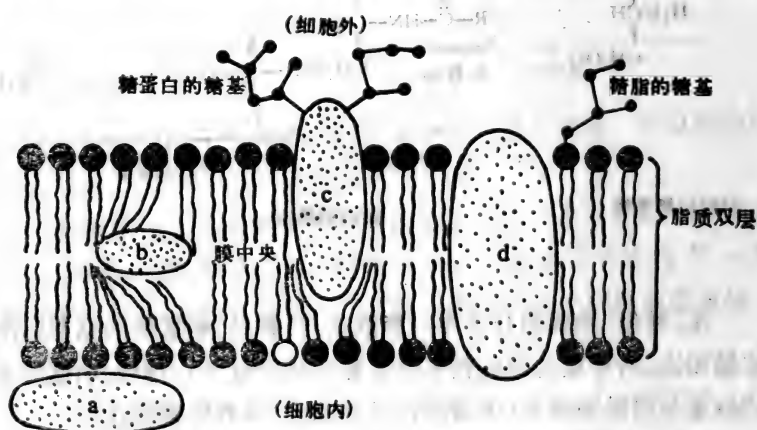


图 2-1 生物膜脂质双层结构示意图
a、表在蛋白质；b、c、d、内在蛋白质

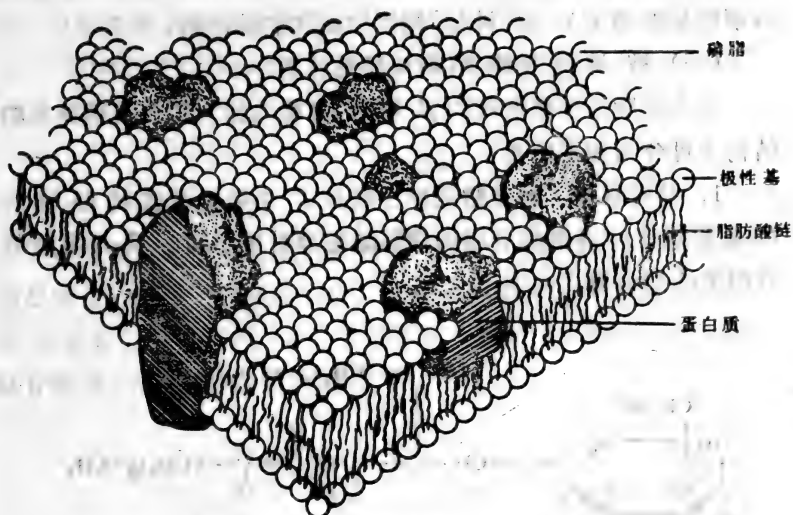


图 2-2 生物膜结构的液态镶嵌模型

多种模型，目前为多数人接受的是液态镶嵌模型（见图 2-1、2）。这个模型的要点为：（1）膜磷脂排列成双分子层，它构成膜的基质。磷脂的极性端亲水，朝着水相，而非极性端疏水，位于双层内部。双分子层的每一个磷脂分子既规则地排列着，又有转动、摆动和横向流动的自由，它们处于液晶状态。磷脂双分子层具有流动性、柔韧性、高电阻性和对高极性分子的不通透性。（2）多种蛋白质包埋于基质之中，称为膜蛋白。膜蛋白是球蛋白，它们可以从二侧表面嵌入，或穿透整个双分子层。膜蛋白的极性区伸出膜的表面，而非极性区埋藏在膜的疏水的内部。埋藏在脂质双分子层中或贯穿脂质双分子层者称为内在蛋白，附着在脂质双分子层表面者称为表在蛋白。

二、糖脂

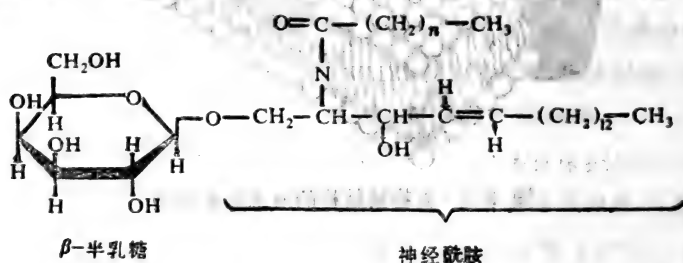
糖脂是分子中含有糖的脂类。由于结构和性质的复杂与多样

性，分类很困难而且不统一。本书仅简单介绍其中具有一般脂类溶解性质的两大类：糖[神经]鞘脂类和甘油醇糖脂。

(一) 糖[神经]鞘脂类(糖神经酰胺类)

这类糖脂是神经酰胺的 β -糖苷，又称为糖苷脂。根据糖基的结构又可分为如下两类：

1. 脑苷脂类 脑苷脂是神经酰胺 β -半乳糖苷或神经酰胺 β -葡萄糖苷。各种脑苷脂的脂肪酸组分有所不同。 β -半乳糖脑苷脂类的结构通式如下：



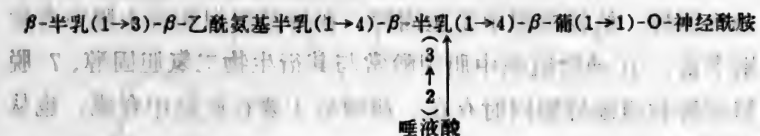
β -半乳糖脑苷脂类存在于脑和神经组织。 β -葡萄糖脑苷脂类不仅存在于脑和神经组织，而且其他组织也含有，但含量不多。

从糖基结构来看，除了上述单糖基脑苷脂以外，动植物组织中还含有二糖基、三糖基、四糖基的脑苷脂。脑苷脂中的半乳糖基尚有以硫酸酯的形式存在，称为硫酸脑苷脂。

2. 神经节苷脂类 神经节苷脂类结构复杂，其极性头部都含有唾液酸(即N-乙酰神经氨酸)，因此在 pH 7 时带负电荷，又称为酸性糖鞘脂类。大脑灰质和神经末梢含有丰富的神经节苷脂类，非神经组织也含有少量。

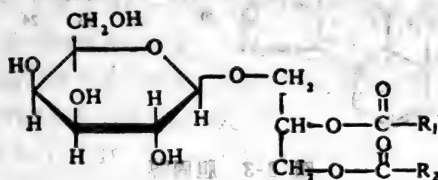
几乎各种神经节苷脂都具有神经酰胺-葡萄糖-半乳糖-N-乙酰氨基半乳糖的核心，并有分支。不同的神经节苷脂所含的六碳糖以及唾液酸的数目及位置各不相同，其所含的脂肪酸也可能不

相同。不同的神经节苷脂可以认为是从单唾液酰节苷脂衍生出来的。单唾液酰节苷脂的结构如下：



(二) 甘油醇糖脂

这类糖脂是二酰甘油的己糖(主要为半乳糖或甘露糖)或脱氧葡萄糖苷。存在于绿色植物中, 又称植物糖脂。有的含一分子己糖, 有的含二分子己糖, 有的糖基还带有磺基($-\text{SO}_3\text{H}$)。例如二酰甘油 β -半乳糖苷的结构如下:



(三) 糖脂的生理功能

糖脂的生物化学在当前已受到很大的重视, 虽然在细胞膜中它的含量很少, 但是它在许多特殊的生物功能中是非常重要的。糖脂在细胞识别、组织免疫、血型专一性、组织器官的专一性、神经突触的传导等多种生物功能中起作用。

第五节 固 醇

固醇是一类物理性质及物态与脂肪类似的物质, 属于类脂。

固醇类是以环戊烷多氢菲为基本结构的环状高分子一元醇, 又称为甾醇类。它在生物体中可以游离状态存在或与脂肪酸结合成酯的形式存在。动物固醇以胆固醇为代表, 植物固醇以麦角固醇为代表。

一、胆固醇(胆甾醇)

胆固醇以游离及酯的形式存在于一切动物组织中，因此又称为动物固醇。植物组织无胆固醇。在神经组织和肾上腺中含量特别丰富。在动物组织中胆固醇常与其衍生物二氢胆固醇、7-脱氢胆固醇和胆固醇酯同时存在。胆固醇主要在肝脏中合成，也从食物中摄取。

胆固醇是环戊烷多氢菲的衍生物，在 C-3 位上有一个羟基，C-5 与 C-6 位间有一个双键，C-10 和 C-13 位上各连接一个甲基，C-17 位上连接一个含 8 碳的枝链。其结构如图 2-3。

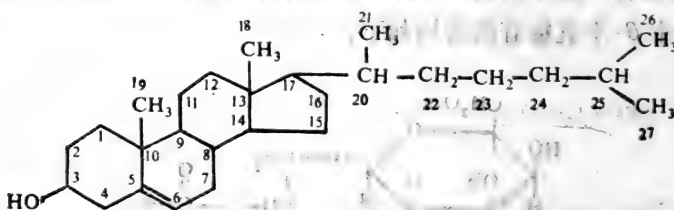


图 2-3 胆固醇

胆固醇不溶于水、酸或碱，易溶于胆汁酸盐溶液，溶于乙醚、氯仿、苯、热乙醇等溶剂及油脂中。

7-脱氢胆固醇存在于皮肤和毛发，经阳光或紫外线照射后可变成维生素 D₃。在动物机体中，胆固醇可转变为多种固醇类激素。胆固醇在机体内还可以转变为胆汁酸盐，是脂肪的良好乳化剂，可促进脂肪的消化吸收。

二、麦角固醇

麦角固醇是植物中常见的固醇之一，结构与胆固醇十分相似，在 C-5 至 C-8 间有一共轭双键，C-17 位上的侧链是分枝的九碳烯基，其结构如图 2-4。

麦角固醇的性质与胆固醇相似。它经紫外线照射后可变成维生素 D₂。维生素 D₂ 与 D₃ 的差异仅在于与 C-17 相连的侧链有

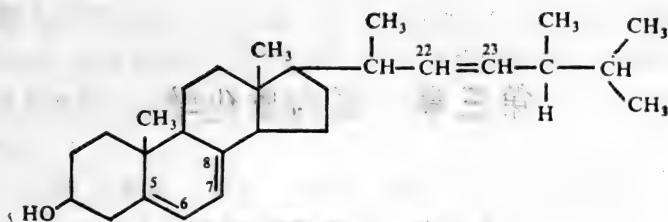


图 2-4 麦角固醇

所不同。

思考题

1. 脂类物质有哪些共性？脂与酯有何异同？脂类包括哪些物质？
2. 试讨论脂类的生物学意义。
3. 天然的脂肪酸有哪些种类？其结构和性质的关系如何？
4. 写出下列各种脂肪酸的结构式：
(a) 16:0 (b) 18:1^{Δ⁹} (c) 20:4^{Δ^{5,8,11,14}}
5. 脂肪的结构如何？脂和油有何差异？其原因是什么？
6. 用结构式写出三硬脂酰甘油的皂化反应方程式。肥皂为什么能去污？
7. 皂化值、碘值的含义是什么？分别反映出脂肪结构上的什么特点？
8. 什么称为脂肪的酸败？试讨论酸败的原因及其防止办法。用什么作为衡量油脂酸败程度的指标？
9. 写出卵磷脂和鞘磷脂的结构式，试分析它们的结构与生物膜的结构有什么关系？
10. 试简要讨论生物膜结构的液态镶嵌模型的要点？
11. 糖鞘脂类与甘油醇糖脂在结构上有何区别。
12. 试以胆固醇为代表讨论固醇的结构特点。

第三章 蛋白质化学

第一节 蛋白质的概念

一、蛋白质的生物学意义

早在 19 世纪初叶,有机化学家马尔德 (Mulder) 首先采用了 1883 年伯齐利厄斯 (Berzelius) 提出的“Protein”这一术语,它源于希腊字,意思是“最原始的”、“最重要的”。德国、日本和我国等根据这类物质和鸡蛋白相似而称之为“蛋白质”。后来有人建议按原义译为“朊”,但因蛋白质一词沿用已久故未能推广。

众所周知,生命活动的基本单位是细胞,细胞的主体是原生质,而原生质的主要成分是蛋白质,故蛋白质是细胞内最丰富的大分子物质,是生物体形态结构的物质基础,更为重要的是蛋白质具有多种多样的功能。例如酶(是蛋白质)催化体内各种代谢反应的进行;激素(许多是蛋白质)调节体内各种代谢过程;免疫球蛋白执行防御功能;肌肉蛋白是肌肉运动的物质基础;血红蛋白运输氧;在细胞膜通透性、遗传控制、记忆和思维活动等多方面蛋白质都起着重要作用。它是生物表现千差万别功能的基本物质,是生命现象的重要物质基础。生物界从无细胞形态的病毒,到能征服宇宙的人类,所有的生物无论是低级还是高级,都无例外地主要是由蛋白质组成,由蛋白质来体现它的生命活动。

二、蛋白质的概念

蛋白质是生物大分子,分子量由数千至数千万(烟草花叶病毒蛋白质分子量达四千万),一般都在一万以上,结构很复杂。蛋白质可以被酸、碱或酶催化而水解,完全水解的最终产物是氨基酸,

而氨基酸则不能再水解成更小单位，故氨基酸是组成蛋白质的基本单位。在生物体内，所有的蛋白质都在不断地进行分解与合成，因此氨基酸一方面是蛋白质的建筑材料，另一方面又是它的分解产物。

从动、植物组织细胞中提取的各种蛋白质，经元素分析，得知大多数蛋白质的元素组成很相似，大约含碳 50—55%、氢 6—8%、氧 20—23%、氮 15—18%、硫 0—4%（有些蛋白质还含有微量磷、铁、锌、铜等元素）。糖和脂肪一般只含碳、氢、氧三种元素，含氮是蛋白质与糖、脂区别的特征。而且氮的含量较恒定，平均为 16%（即每一克蛋白氮相当于 6.25 克蛋白质），它常用于对生物样品中蛋白质成分的粗略估计。例如现测得某生物样品其氮含量为 0.04 g，求此样品蛋白质含量为多少？

$$6.25 \times 0.04 = 0.25 \text{ g}$$

此样品中蛋白质含量为 0.25 g

三、蛋白质的分类

蛋白质的种类很多。曾经出现过众多的分类方法。它们各依据蛋白质分子的某一特征而进行分类。如按其分子形状、溶解性、分子组成及化学性质等分类。根据蛋白质化学组成和性质，可分为单纯蛋白质和结合蛋白质两大类。

（一）单纯蛋白质

单纯蛋白质水解的最终产物只有氨基酸。按其在水中或其他溶剂中的溶解度、沉淀所需盐的浓度、分子大小及来源等的不同，又可分为七类：

（1）白蛋白：溶于水及稀盐、稀酸或稀碱溶液。用硫酸铵盐析时，50%饱和度以上开始析出。普遍存在于生物体中。

（2）球蛋白：一般在等电点时不溶于水，但加少量盐、酸或碱后可以溶解。50%饱和度硫酸铵可以析出。球蛋白普遍存在于生物体中。

3. 醇溶谷蛋白：可溶于70—80%乙醇中，但不溶于水或无水乙醇。在化学组成上有一定特点，如含脯氨酸及酰胺较多，非极性侧链远较极性侧链多。这类蛋白质在植物种子中较多。如玉米醇溶蛋白、小麦醇溶蛋白、大麦醇溶蛋白。

4. 谷蛋白：在等电点时不溶于水和稀盐溶液中，但易溶于稀酸和稀碱。如麦谷蛋白和米谷蛋白等。

5. 鱼精蛋白：溶于水及稀酸，但为稀氨水所沉淀。分子中碱性氨基酸特别多，所以分子呈强碱性。分子量很小，没有特定的空间结构似应归于多肽。一般多自鱼精中抽提。

6. 组蛋白：溶于水及稀酸但为稀氨水所沉淀。分子中精氨酸与赖氨酸特别多，分子呈弱碱性。一般存在于动物体中，与酸性物质如核酸等相结合。

7. 硬蛋白：这类蛋白质是动物体中作为结缔及保护功能的蛋白质，不溶于水、盐溶液、稀碱和稀酸溶液。如角蛋白、胶原、网硬蛋白、弹性蛋白。

(二) 结合蛋白质

结合蛋白质是由单纯蛋白质和非蛋白质二部分结合而成，水解的最终产物除氨基酸外，还有糖、脂肪、核酸、磷酸及色素。故根据非蛋白质部分的这些成分又可分成五类：

1. 核蛋白：与核酸结合的蛋白质，如细胞核中的核蛋白由DNA和组蛋白结合而成。

2. 糖蛋白(包括蛋白多糖)：与一种或多种糖，或糖的衍生物结合的蛋白质。一般糖蛋白的糖链(或称糖单位)中不含糖醛酸，而蛋白多糖的糖链往往是结构很长的单链氨基多糖(即粘多糖)，并含有大量糖醛酸。由于分子中结合多条长链氨基多糖，糖含量常超过其蛋白质部分，故称为蛋白多糖。糖蛋白有各种各样的生物学功能。如免疫保护作用、酶促催化作用、激素控制、激素储存、血液凝固、离子转运、润滑作用、表面保护作用、结构支持、细胞粘

附和分子识别。

3. 脂蛋白和蛋白脂：与脂类相结合的蛋白质。脂类包于分子内部而呈水溶性，即脂蛋白，例如卵黄球蛋白，血清中的 α -和 β -脂蛋白等。脂类在外表面溶于有机溶剂的，即为蛋白脂，如脑中的蛋白脂。前者与脂类储运有关，后者则是各种膜（如细胞核膜、质膜等）的主要组成成分。

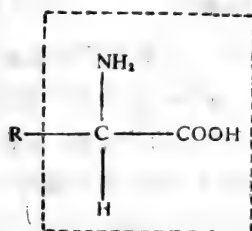
4. 色蛋白：与色素相结合的蛋白质。色蛋白种类很多，尤以含卟啉者为重要。如血红蛋白、过氧化氢酶、细胞色素c等。

5. 磷蛋白：丝氨酸或苏氨酸侧链上连结了磷酸的蛋白质，如卵黄中的卵黄磷蛋白，乳中的酪蛋白都是典型的磷蛋白。

第二节 氨基酸的结构和性质

一、氨基酸的结构

蛋白质水解所得到的 20 种氨基酸，都可看成是羧酸分子中 α -碳原子上的一个氢原子被氨基取代而生成的化合物，故除脯氨酸（它实际是一个亚氨基酸）外，它们的结构可以用下面的通式表示，

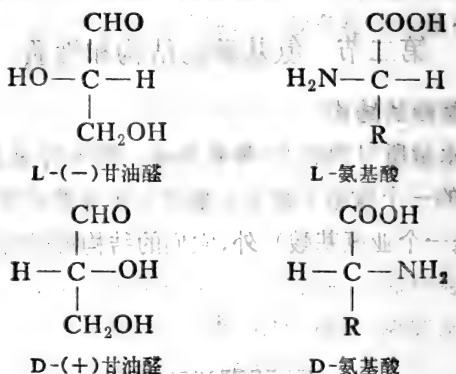


R 代表侧链

由上图可见这些天然氨基酸，在结构上的共同特点是与羧基相邻的 α -碳原子上都连有一个氨基，因而称为 α -氨基酸。方框

内的基团为各种 α -氨基酸的共同结构,故不同氨基酸的区别在于R-基团的不同。

从上通式可以看到,除R-基为氢原子(即甘氨酸)外,所有的 α -氨基酸分子中的 α -碳原子上都连接四个互相不同的基团或原子(即R、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{H}$),故均为手性碳原子。 α -碳原子上四个不同的取代基有两种不同的排布形式,结果形成互为镜像的结构,即两种立体异构体。为区别两者,人为地规定一种为L-型,另一种为D-型,书写时将羧基写在 α -碳原子的上端,氨基在左边的为L-型,氨基在右边的为D-型,这是与甘油醛的构型相比较后确定的。



根据立体化学的研究,凡是有手性碳原子的分子都有光学活性,或者说有旋光性。所以 α -氨基酸(除甘氨酸外)都具有旋光性。各种L-型的氨基酸中有的为左旋,有的为右旋。

从蛋白质水解得到的 α -氨基酸均属于L-型的,所以习惯上在书写氨基酸时都不标明构型和旋光方向。虽然蛋白质中没有D-型氨基酸,但生物界有D-型氨基酸存在,如某些细菌产生的抗菌素就含有D-型氨基酸。

二、氨基酸的分类

蛋白质中的氨基酸,可按各种R-基的化学结构(脂肪族的、芳

香族的、杂环族的)进行分类。然而,更有意义的分类方法是按R-基极性分类,因为它能显示出各种氨基酸在蛋白质中所发挥的功能性作用。按此种分类法,由水解蛋白质得到的20种氨基酸可分为三类:R-基有电荷的氨基酸;R-基有极性但不带电荷的氨基酸及R-基为非极性的氨基酸(见表3-1)。

1. R-基有电荷的氨基酸有五种:天冬氨酸和谷氨酸的侧链解离后分别有带负电荷的 β -、 γ -羧基,故称为酸性氨基酸。赖氨酸、精氨酸和组氨酸的侧链因为可接受质子而带正电,故称为碱性氨基酸。

2. R-基有极性但不具有电荷的氨基酸有七种,这类氨基酸具有极性R-基,它能参与氢键的形成。丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸的R-基有羟基;天冬酰胺和谷氨酰胺具有酰胺基;半胱氨酸则含有巯基($=SH$)。甘氨酸的R-基只是一个氢原子,对极性强的 α -氨基和 α -羧基影响很小,有时也把它归入非极性类。

3. R-基为非极性或疏水性的氨基酸有八种。丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、甲硫氨酸具有脂肪烃侧链;苯丙氨酸具有芳香基侧链;脯氨酸和色氨酸具有杂环侧链。由此可以理解它们的疏水性质,这类氨基酸中以丙氨酸R-基疏水性为最小,它介于非极性氨基酸和不带电荷的极性氨基酸之间。上面提到的脯氨酸实际上是一个亚氨基酸,它的氮原子不是伯胺,而是仲胺。后者可以看成是 α -氨基酸上的侧链取代了氨基上的一个氢原子所形成的产物。

早年认为组成蛋白质的氨基酸一共21种。后来发现羟脯氨酸是在蛋白质生物合成以后经专一酶作用将脯氨酸羟基化而成的,因此不计入基本氨基酸之列。与此相似,在组蛋白等蛋白质中发现有甲基组氨酸与甲基赖氨酸,它们也是生物体合成了肽链后,经专一的酶作用而甲基化的,这些都属于稀有氨基酸。为什么所有的生物体的蛋白质都含有相同的20种基本氨基酸?其道理在

表 3-1 氨基酸分类表

分类	全名	常用符号		单字母符号	化 学 结 构 式
		中文代号	三字母符号		
R 基 带 电 荷 的 氨 基 酸	天冬氨酸	天冬	Asp	D	$\begin{array}{c} \text{+NH}_3 \\ \\ \text{-OOC-CH}_2\text{-C-COO-} \\ \\ \text{H} \end{array}$
	谷氨酸	谷	Glu	E	$\begin{array}{c} \text{+NH}_3 \\ \\ \text{-OOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C-COO-} \\ \\ \text{H} \end{array}$
	赖氨酸	赖	Lys	K	$\begin{array}{c} \text{+NH}_3 \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C-COO-} \\ \\ \text{H} \end{array}$
	精氨酸	精	Arg	R	$\begin{array}{c} \text{+NH}_3 \quad \text{+NH}_3 \\ \quad \quad \\ \text{H}_2\text{N-C-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C-COO-} \\ \quad \quad \\ \text{H} \quad \quad \text{H} \end{array}$
	组氨酸	组	His	H	$\begin{array}{c} \text{+NH}_3 \\ \\ \text{HC-C-CH}_2\text{-C-COO-} \\ \quad \quad \\ \text{+HN} \quad \text{NH} \quad \text{H} \\ \quad \quad \backslash \quad / \\ \quad \quad \text{C} \\ \quad \quad \\ \quad \quad \text{H} \end{array}$

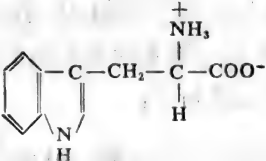
续

分类	全名	常用符号		单字母 符号	化 学 结 构 式
		中文 代号	三字 符号		
R 基 有 极 性 但 不 带 电 荷 的 氨 基 酸	酪氨酸	酪	Tyr	Y	$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\underset{\text{H}}{\overset{+\text{NH}_3}{\text{C}}}-\text{COO}^-$
	半胱氨酸	半胱	Cys	C	$\text{HS}-\text{CH}_2-\underset{\text{H}}{\overset{+\text{NH}_3}{\text{C}}}-\text{COO}^-$
	天冬酰胺	天酰	Asn	N	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{ }}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\underset{\text{H}}{\overset{+\text{NH}_3}{\text{C}}}-\text{COO}^-$
	谷氨酰胺	谷酰	Gln	Q	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{ }}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{H}}{\overset{+\text{NH}_3}{\text{C}}}-\text{COO}^-$
	丝氨酸	丝	Ser	S	$\text{HO}-\text{CH}_2-\underset{\text{H}}{\overset{+\text{NH}_3}{\text{C}}}-\text{COO}^-$
	苏氨酸	苏	Thr	T	$\text{CH}_3-\underset{\text{H}}{\overset{\text{OH}}{\text{CH}}}-\underset{\text{H}}{\overset{+\text{NH}_3}{\text{C}}}-\text{COO}^-$
	甘氨酸	甘	Gly	G	$\text{H}-\underset{\text{H}}{\overset{+\text{NH}_3}{\text{C}}}-\text{COO}^-$

续

分类	全名	常用符号		单字母符号	化学结构式
		中文代号	三字母符号		
非 极 性 氨 基 酸	丙氨酸	丙	Ala	A	$\begin{array}{c} + \\ \text{NH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 - \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{H} \end{array}$
	缬氨酸	缬	Val	V	$\begin{array}{c} + \\ \text{NH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \diagup \text{CH} - \text{C} - \text{COO}^- \\ \text{CH}_3 \diagdown \\ \\ \text{H} \end{array}$
	亮氨酸	亮	Leu	L	$\begin{array}{c} + \\ \text{NH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \diagup \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{COO}^- \\ \text{CH}_3 \diagdown \\ \\ \text{H} \end{array}$
	异亮氨酸	异亮	Ile	I	$\begin{array}{c} + \\ \text{NH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{C} - \text{COO}^- \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{H} \end{array}$
	甲硫氨酸	甲硫	Met	M	$\begin{array}{c} + \\ \text{NH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 - \text{S} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{H} \end{array}$
	脯氨酸	脯	Pro	P	$\begin{array}{c} \text{H}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{C} - \text{C} - \text{COO}^- \\ \quad \diagup \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{C} \\ \quad \\ \text{N}^+ \quad \text{H} \\ \\ \text{H}_2 \end{array}$
	苯丙氨酸	苯丙	Phe	F	$\begin{array}{c} + \\ \text{NH}_3 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{H} \end{array}$

续

分类	全名	常用符号		单字母符号	化学结构式
		中文代号	三字母符号		
非极性氨基酸	色氨酸	色	Trp	W	

学习遗传密码的普遍性时,我们就会明白了。

三、氨基酸的性质

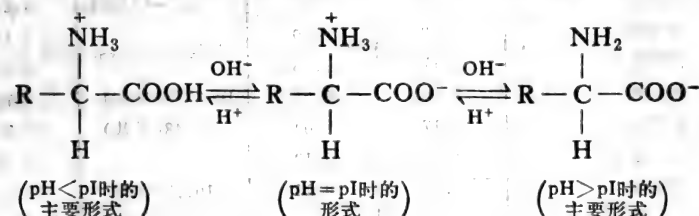
(一) 氨基酸的物理性质

α -氨基酸为无色晶体,熔点一般在 200°C 以上。其味随氨基酸不同有所不同,谷氨酸的单钠盐有鲜味,是味精的主要成分。

一般氨基酸能溶于水,并能溶于稀酸或稀碱中,但不能溶于有机溶剂。通常酒精能把氨基酸从其溶液中沉淀析出。

(二) 氨基酸的两性解离和等电点

氨基酸分子中既具有氨基($-\text{NH}_2$)又具有羧基($-\text{COOH}$)。 $-\text{COOH}$ 基可电离出 H^+ 成为带负电的 $-\text{COO}^-$;而氨基由于其氮原子上的未共用电子对,则吸引溶液中的 H^+ 而质子化成为带正电荷的 $-\text{NH}_3^+$ 。氨基酸在不同的酸、碱条件下发生解离的情况如下:



因此调节溶液的 pH ,可使氨基酸具有不同带电形式。当调节氨基酸溶液的 pH ,使氨基酸分子上的 $-\text{NH}_3^+$ 基和 $-\text{COO}^-$ 基的解

离度完全相等,此时[正离子]=[负离子]氨基酸成为兼性离子(也称为两性离子)。即氨基酸所带净电荷为零,在电场中既不向正极移动,也不向负极移动,此时氨基酸所处溶液的 pH 值称为该氨基酸的“等电点”,以符号“pI”表示。各种氨基酸的 pI 和解离常数列于表 3-2,氨基酸的 pI 可由其分子上解离基团的解离常数来确定。一氨基一羧基的氨基酸的等电点是它的 pK_1 和 pK_2 的算术平均值,其公式如下,

$$\text{即 } pI = \frac{1}{2}(pK_1 + pK_2)$$

现以甘氨酸为例,由表 3-2 查得甘氨酸的 $pK_1=2.34$, $pK_2=$

表 3-2 各种氨基酸在25°C时pK和pI的近似值

氨基酸名称	pK_1 (α -COOH)	pK_2 (α -NH ₃)	pK_3 (R)	PI
甘氨酸	2.34	9.60		5.97
丙氨酸	2.34	9.69		6.02
缬氨酸	2.32	9.62		5.97
亮氨酸	2.36	9.60		5.98
异亮氨酸	2.36	9.68		6.02
丝氨酸	2.21	9.15		5.68
苏氨酸	2.71	9.62		6.18
半胱氨酸(30°C)	1.96	10.28	8.18(-SH)	5.07
甲硫氨酸	2.28	9.21		5.75
天冬氨酸	1.88	9.60	3.65(-COOH)	2.77
谷氨酸	2.19	9.67	4.25(-COOH)	3.22
天冬酰胺	2.02	8.80		5.41
谷氨酰胺	2.17	9.13		5.65
赖氨酸	2.18	8.95	10.53(ϵ -NH ₃)	9.74
精氨酸	2.17	9.04	12.48(胍基)	10.76
苯丙氨酸	1.83	9.13		5.48
酪氨酸	2.20	9.11	10.07(OH)	5.66
色氨酸	2.38	9.39		5.89
组氨酸	1.82	9.17	6.00(咪唑基)	7.59
脯氨酸	1.99	10.60		6.30

9.60 所以它的等电点是

$$pI = \frac{2.34 + 9.60}{2} = 5.97$$

由表 3-2 可知,酸性氨基酸的等电点值较小,碱性氨基酸的等电点值较大。而一羧基一氨基的氨基酸,因羧基解离度大于氨基,所以其等电点都在 pH 6.0 左右。如甘氨酸为 5.97,丝氨酸为 5.68,缬氨酸为 5.98,异亮氨酸为 6.02。

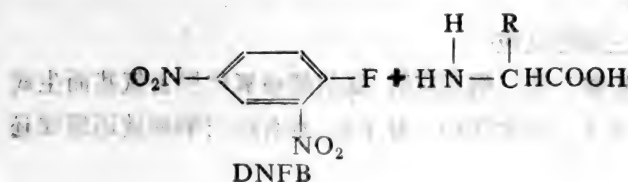
氨基酸的两性离解及等电点的概念,在氨基酸的分离技术上已得到广泛的应用。由于各种氨基酸的电离程度及等电点不同。例如当 pH 6 时,丙氨酸呈兼性离子存在,即 pH 6 是丙氨酸的等电点;甘氨酸接近等电点;谷氨酸、天冬氨酸以负离子存在;赖氨酸、精氨酸以正离子状态存在。利用这一性质,便可采用离子交换树脂法及电泳法等将这些氨基酸从混合液中分离出来。又因氨基酸在等电点时净电荷为零,通过静电引力易迅速结合沉淀析出,故在生产中,把发酵液的 pH 值调到谷氨酸的等电点附近,就会有大量谷氨酸结晶析出。

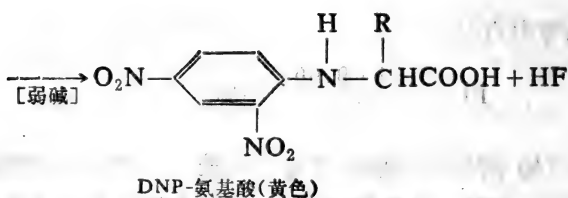
(三) 氨基酸的化学反应

烷基与芳香基在化学上是不活泼的,因此氨基酸的化学性质由氨基、羧基、胍基、咪唑基、巯基、羟基、酚基及吡啶基决定。下面择要介绍氨基、羧基的反应。

1. 与 2,4-二硝基氟苯反应

氨基酸的 α -氨基与 2,4-二硝基氟苯(代号 DNFB)反应,在弱碱性溶液中生成二硝基苯代氨基酸(DNP-氨基酸)。反应如下,

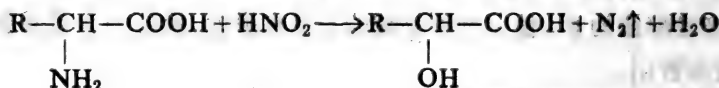




这一反应是定量转变的,产物在酸性条件下能经受 100°C 的高温而无严重的破坏,产物是黄色的。它在蛋白质化学的研究史上起过重要作用,桑格(Sanger)首先用它测出了胰岛素的排列顺序。现在依旧是蛋白质N-末端氨基酸测定的方法之一。

2. 与亚硝酸的反应:

氨基酸的 α -氨基定量地与亚硝酸作用产生羟酸和 N_2 ,其反应如下。



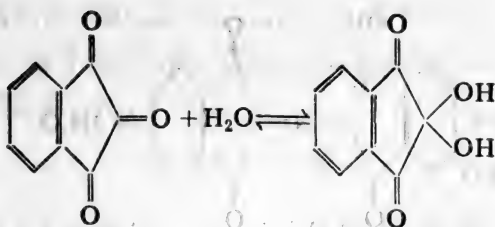
所生成的 N_2 可用气体分析仪器测定,这是范斯莱克(Van Slyke)氨基氮测定法的原理。

α -氨基在室温下10分钟内作用就完全, ϵ -氨基(赖氨酸)与 HNO_2 作用较慢。含亚氨基的脯氨酸则不能与亚硝酸反应。

范斯莱克氨基氮测定法在氨基酸定量及测定蛋白质水解进行程度均有用处。

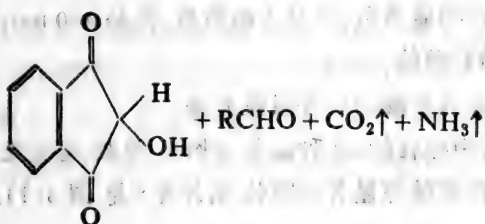
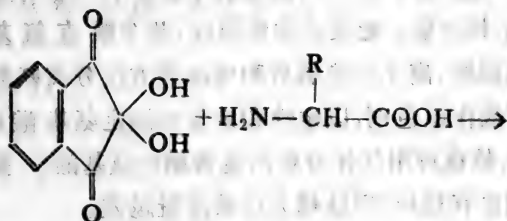
3. 与茚三酮的反应

当 α -氨基酸与茚三酮反应时,氨基酸被氧化脱去氨基而生成一分子醛,一分子二氧化碳和一分子氨,水合茚三酮则被还原成还原型茚三酮。

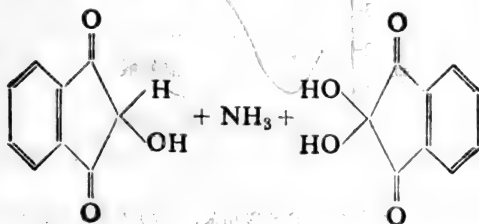


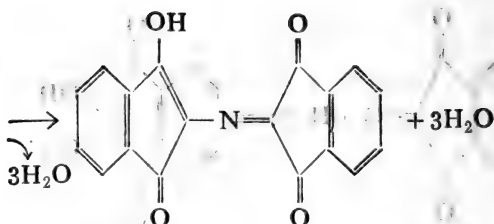
茛三酮

水合茛三酮



还原型茛三酮





鲁曼氏(Ruhemann)紫

所产生的 NH_3 又定量地与一分子茚三酮及一分子还原型茚三酮合成鲁曼氏紫色络合物。吸收光谱峰在 570 nm, 可用比色法在 570 nm 测定其含量。此反应非常灵敏, 几个微克氨基酸就能显色。故在纸层析、离子交换层析和电泳等方法分离氨基酸时, 常用茚三酮溶液作显色剂, 以定性和定量地测定氨基酸。同时反应中生成 CO_2 , 故也可用气体分析法定量测定氨基酸。多肽和蛋白质与茚三酮也有反应, 但肽越大灵敏度就越差。

水合茚三酮与亚氨基酸(脯氨酸和羟脯氨酸)反应能生成不同的产物, 这个产物显黄色, 其最大吸收波长是 440 nm, 所以可在此波长测定脯氨酸的含量。

(四) 芳香族氨基酸的紫外吸收光谱

虽然蛋白质中存在的 20 种氨基酸均不吸收可见光, 但酪氨酸、色氨酸和苯丙氨酸等显著地吸收紫外光(见图 3-1)。因为大

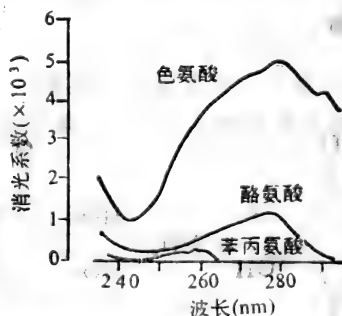
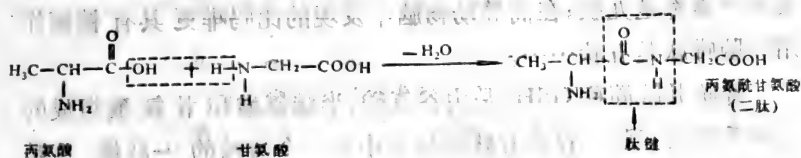


图 3-1 色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸的紫外吸收光谱

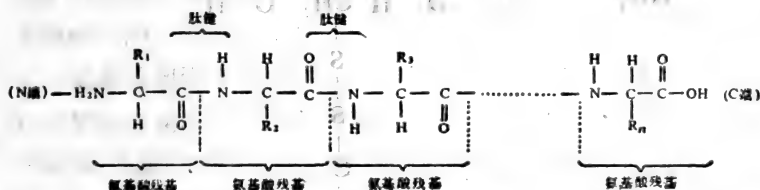
多数蛋白质均含有酪氨酸残基,因此用紫外分光光度计测定蛋白质对 280 nm 紫外光的吸收,可以作为测定溶液中蛋白质含量的特别快速而简便的方法。

第三节 肽

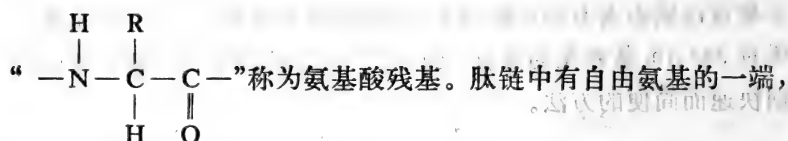
一个氨基酸的氨基,可与另一个氨基酸的羧基缩合失去一分子水,形成的酰胺键称为肽键,其化合物称肽。由二个氨基酸分子缩合形成的肽称“二肽”,例如丙氨酸的 α -羧基与甘氨酸的 α -氨基缩合形成的二肽称为丙氨酰甘氨酸。



由上可见,二肽分子中尚有一个自由的氨基和一个自由的羧基,所以还可和第三个氨基酸以肽键缩合成三肽,其余类推。若一种肽含有少于十个氨基酸残基则称为“寡肽”,而十个以上氨基酸残基组成者则称“多肽”。多肽链的结构通式是:



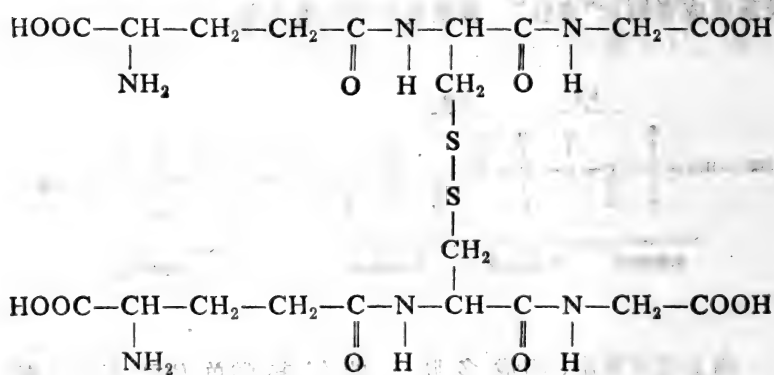
由上式可看出,组成多肽链的氨基酸单位已不是完整的氨基酸分子了。因此链中相当于氨基酸的单位结构,即



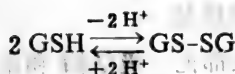
称为N端或氨基末端，而有羧基的另一端则称为C端或羧基末端，习惯上总是把N端列在左边。

生物体内有种类很多的天然多肽，这些多肽是生物体新陈代谢的产物。许多多肽具有激素的作用，其中包括大多数哺乳动物的多肽激素。由于多肽的氨基酸组成和排列顺序的多样性和可变性使得它们具有重要的生理意义。例如脑垂体后叶分泌的加压素及催产素都是九肽；在高等动物脑中发现的比吗啡更具有镇痛作用的脑啡肽是五肽……。

谷胱甘肽简称GSH，是由谷氨酸，半胱氨酸和甘氨酸组成的一种重要的三肽。谷胱甘肽的分子中有一个特殊的 γ -肽键，这是由谷氨酸的 γ -羧基与半胱氨酸的 α -氨基缩合而成的，是与蛋白质分子中的肽键不同的。因其分子中含有活性巯基($-\text{SH}$)极易被氧化。即两分子还原型谷胱甘肽(GSH)通过二硫键结合，形成氧化型谷胱甘肽(GS-SG)其分子结构如下：

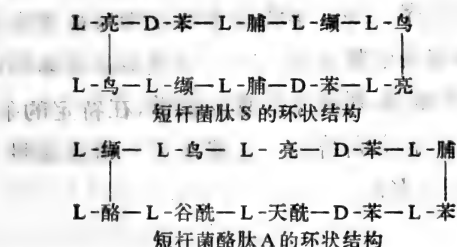


谷胱甘肽的还原型和氧化型的转变是可逆的。



谷胱甘肽广泛分布于动物、植物、微生物细胞中，它对保持某些以巯基为活性基团的酶的活性起着重要的作用。临床上谷胱甘肽用于治疗各种肝病，具有广谱解毒作用，保护机体免受重金属及环氧化合物的毒害。

以上我们述及了有两个末端的开链肽，一些微生物还产生一些环状封闭链，如短杆菌肽 S 和短杆菌酪肽 A，它们都有抗菌素的作用。



第四节 蛋白质的结构

根据各种化学的、生物学的方法证明，蛋白质中氨基酸之间也是通过肽键相连，肽键是蛋白质中的基本化学键。因此，蛋白质都是多肽，是由一条或一条以上的多肽链按特有的结构方式组合而成的特殊的大分子多聚物。

根据长期研究蛋白质结构的结果，已确认任何一种蛋白质，在其自然状态或活性形式时，都具有独特而稳定的三维结构（亦称空间结构、高级结构或立体结构）。而且蛋白质在执行正常的生理功能时，这种专一的三维结构常常必须发生一些微妙的变化。蛋白质的三维结构具有多层次和错综复杂的基本特点。人们为了认识的方便，通常将蛋白质分子的结构分为一级结构、二级结构、三级结构和四级结构。其中二级结构以上就属于三维结构的范畴。

一、蛋白质的一级结构

在相当长的时间里都把一级结构和化学结构的内容混同起来。1969年国际理论化学与应用化学联合会(简称IUPAC)规定,一级结构只指肽链中氨基酸的排列顺序。这样就把一级结构与化学结构研究的内容区分开来。

1955年由桑格等人首次阐明牛胰岛素的 α 、 β 链的一级结构(见图3-2),这是第一个蛋白质分子的化学结构被揭晓,从此开辟了蛋白质结构化学的研究领域。自1955年以来到现在已有数百种动物、植物的蛋白质分子的一级结构被测定出来,每种蛋白质分子都有其特定的氨基酸排列顺序。1965年我国生物化学家最先合成了具有天然生物学活性的结晶牛胰岛素。人工合成牛胰岛素的成功说明,一个只提供氨基酸的排列顺序信息的肽链,在特定的条件下,自动地形成天然胰岛素的空间结构。这就从另一角度证明了一级结构决定空间结构这一规律。

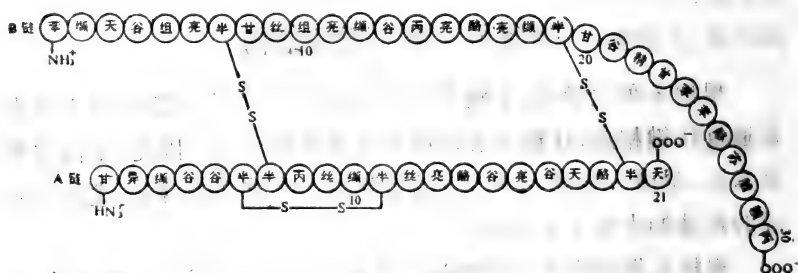


图 3-2 牛胰岛素的氨基酸排列顺序

一级结构的表达方法一般是从左到右,表示从N端到C端,其顺序用氨基酸的符号表达。在国际上早年用三字母符号,即用三个字母代表一个氨基酸,不仅书写不方便,而且对电子计算机的使用也不便,故近年来渐趋采用单字符符号。每个符号间有时用一点或一短横隔开,有时不用这些符号。图3-2就是牛胰胰岛素的一级

结构的中文表达方法之一。

二、蛋白质分子的空间结构

世界从空间看是三维的,物质是立体的。一个分子内的原子间的关系,在化学家手中表达成平面的形式,但这仅仅是为了书写和交流的方便。分子内原子间的相互关系是立体的,这种立体关系就是“三维结构”。蛋白质二级结构以上的层次都属于三维结构的范畴。蛋白质的一个突出的特征就是每一种蛋白质都具有独特的、专一的空间结构,在这种空间结构的基础上产生出蛋白质的功能。现在人们普遍认识到,没有特征的空间结构就没有复杂的蛋白质功能。在正常的生理过程中构象可以发生必须的特征变化,这是蛋白质的基本属性。因此蛋白质的空间结构知识对于在分子水平了解许多生物学过程,对探讨蛋白质在生命活动中的作用,都是极为重要的。

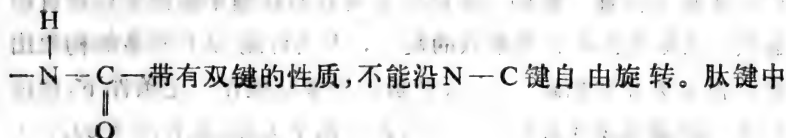
在描述生物大分子的三维结构方面,过去常用构象与构型这两个容易混淆的概念。国际生化学会已建议将“构象”与“构型”二词区别开来使用。

“构型”是指在一个化合物分子中,原子的空间排列,这种排列的改变会涉及到共价键的生成与破坏。如氨基酸的D-和L-型是构型。

“构象”是指在一个化合物分子中的一切原子,由于单键的旋转而产生不同的空间排布,这种空间排布的变化,仅涉及到氢键等次级键的生成与断裂,但不涉及共价键的生成与断裂。

(一) 蛋白质的二级结构

利用X-射线衍射技术研究多肽链的结构发现肽链中的肽键



的四个原子和它相邻的两个 α -碳原子处于同一个平面上。这种因 C—N 间不能自由旋转而形成的酰胺平面结构称为“肽键平面”，图 3-3 中有肽键平面的示意图。从图上可以看到，多肽链是由许多刚性的肽键平面通过 α -碳原子连接而成的长链，而 R_1, R_2, R_3, \dots 是侧链基团。肽键平面上的 $-\text{C}^\alpha-\overset{\text{O}}{\parallel}-\text{N}-\text{C}^\alpha-$ 或

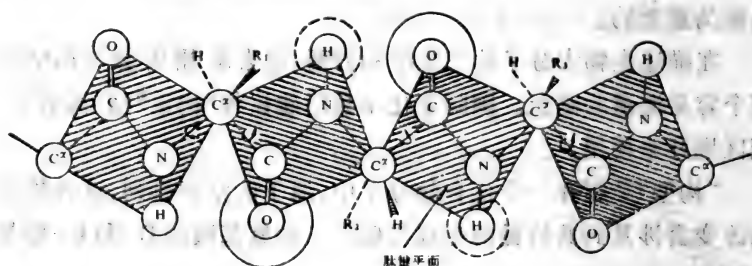
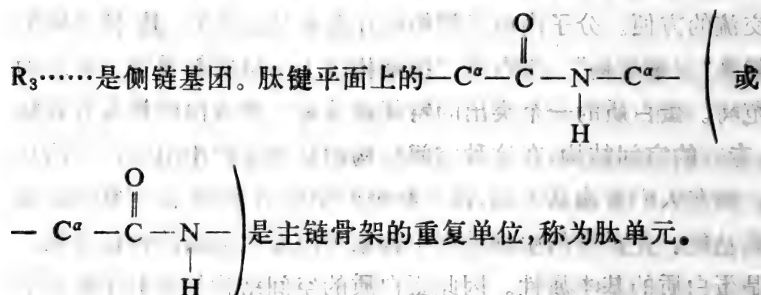


图 3-3 多肽链主链中单键旋转所受的限制

C^α 上的两个键 ($\text{N}-\text{C}^\alpha$ 与 $\text{C}^\alpha-\text{C}$) 都是单键，可以绕键轴自由旋转。这样，由于两个单键的旋转，使以 C^α 相连的两个相邻的肽键平面，以共用的 C^α 为顶点旋转，两个相邻的肽键平面相互间可能有无数个位置。假如一条肽链上所有的肽键平面都作这种自由旋转，肽链就会象一条柔软的链条，主链可能以非常多的构象出现。但事实并非如此。一个天然蛋白质多肽链在一定条件下，往往只有一种或很少几种构象。其原因有两个方面(参看图 3-3)，

第一,一个肽单位的 $C=O$ 基氧原子与相邻的肽单位的 $N-H$ 基氢原子的距离,不能小于范德华半径,否则此构象不能存在。

第二、氨基酸残基侧链的结构、极性对蛋白质构象有很大影响。例如甘氨酸残基的 R 是 H ,对肽键平面旋转的允许区大;而赖氨酸残基的 R 是 $H_2N-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$,异亮氨酸残基

的 R 是 CH_3-CH_2 $\begin{matrix} CH_3 \\ \diagup \\ CH \end{matrix}$ 对肽键平面旋转的允许区小。

总之,在相邻两个肽单位的构象中,非键合原子之间的接近有无障碍,即能量是否达到最低,是决定肽链构象能否存在的原则。

当多肽链主链骨架充分伸展时,肽链的构象如图 3-4 所示。蛋白质多肽链主链的折叠和盘绕方式称为蛋白质的二级结构。天然蛋白质二级结构的内容有 α -螺旋结构、 β -折叠结构、 β -转角结构和无规则卷曲等。

1. α -螺旋结构

蛋白质的螺旋构象是多肽链主链骨架围绕螺旋中心轴盘绕前进而形成的螺旋式构象。螺旋构象有多种类型,其中 α -螺旋结构是蛋白质主链的一种典型结构方式。动物毛中的 α -角蛋白属于纤维状蛋白质,这种蛋白质几乎全是 α -螺旋结构的。在

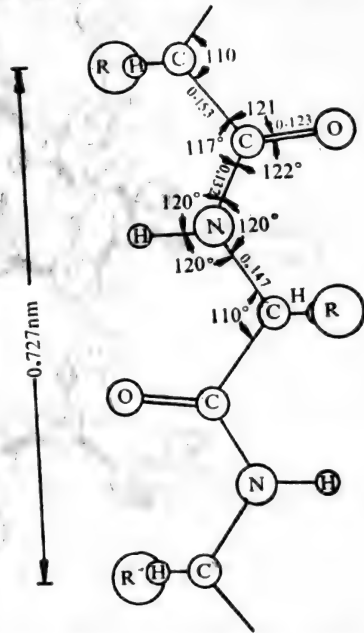


图 3-4 充分伸展的肽链构象

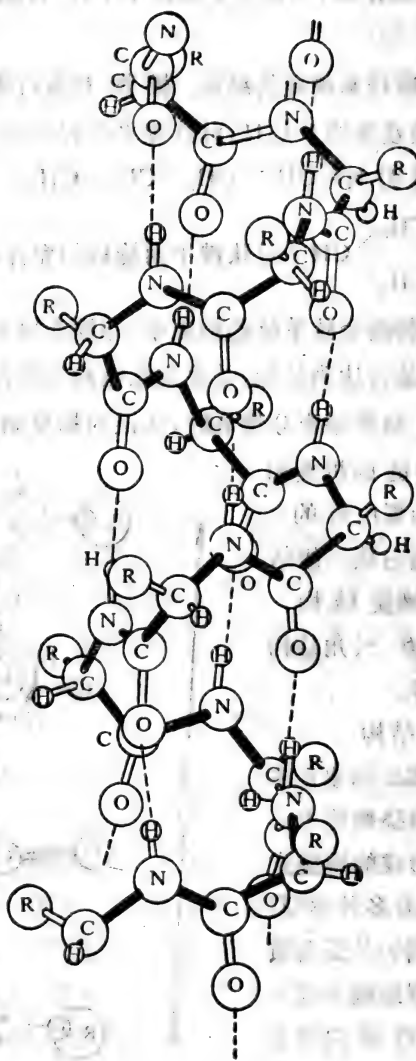


图 3-5 右手 α -螺旋结构示意图

球状蛋白质分子中，一般也具有 α -螺旋结构，但由于蛋白质一级结构不同， α -螺旋的多寡程度也各有不同。 α -螺旋结构如图 3-5 所示。其要点如下：

① 肽链主链骨架围绕螺旋中心轴盘旋前进，每 3.6 个氨基酸残基螺旋上升一圈，螺距是 0.544 nm，每个氨基酸残基的垂直距离是 0.15 nm(图 3-6)。

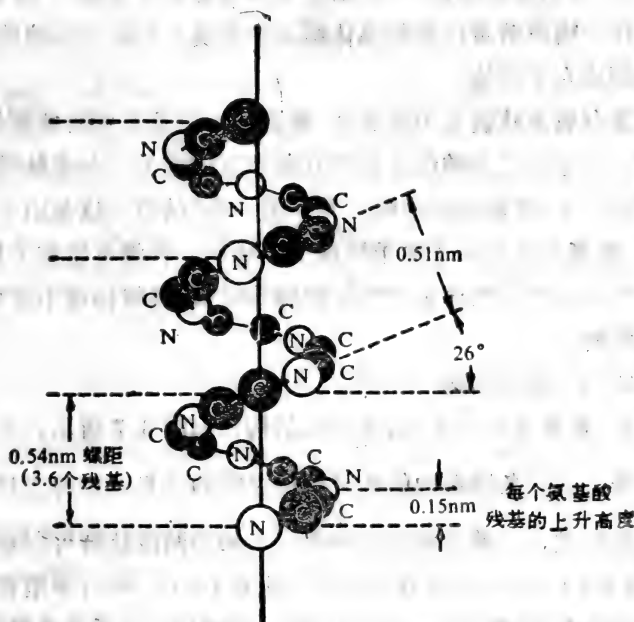
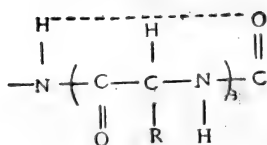


图 3-6 α -螺旋主链构象

② 肽链上每个氨基酸残基的 $\text{N}-\text{H}$ 与其前面第四个氨基酸残基的 $\text{C}=\text{O}$ 形成链内氢键，氢键的取向几乎与中心轴平行，氢键是维持 α -螺旋稳定的主要力量。螺旋体内氢键形成示意如下(虚线表示氢键)：



③ 天然蛋白质的 α -螺旋绝大多数是右手螺旋。到目前为止，仅在嗜热菌蛋白酶的晶体结构中发现，226—229位的氨基酸残基形成左手螺旋。

蛋白质多肽链能否形成 α -螺旋结构以及形成的螺旋体是否稳定，与它的氨基酸组成和排列顺序直接有关，如多肽链中有脯氨酸时， α -螺旋就被中断，并产生一个“结节”，这是由于脯氨酸的 α -亚氨基上氢原子参予肽键的形成后，再没有氢原子形成氢键，所以在肽链顺序上有脯氨酸残基时，肽链就拐弯不再形成 α -螺旋结构。

2. β -折叠结构

β -折叠又称为 β -折叠层状结构，如图 3-7 所示。它依靠两条肽链，或一条肽链内的两段肽链之间的 $\text{C}=\text{O}$ 与 $\text{N}-\text{H}$ 形成氢键形式，氢键与主链走向垂直，相邻两段肽链可以是平行的（见图 3-8），也可以是反平行的（见图 3-9）。平行类型者相邻两段肽链从 N-端到 C-端是同方向的，例如 β -角蛋白就属于此类型。反平行类型者相邻两段肽链走向相反，例如丝心蛋白就属于此类型。从能量角度来考虑，反平行结构更稳定。在 β -折叠结构中，锯齿状的主链折叠成片层（褶皱状），多肽链的长度要比完全伸展的状态短。与片层上 C^α -原子相连的侧链（-R）交替存在于片层的上方和下方，并与片层垂直，避免了相邻侧链间的空间障碍，因此相邻的肽链间能形成最多的氢键，使 β -折叠结构得以稳定。这种结构不仅在纤维蛋白中存在，也普遍存在于球状蛋

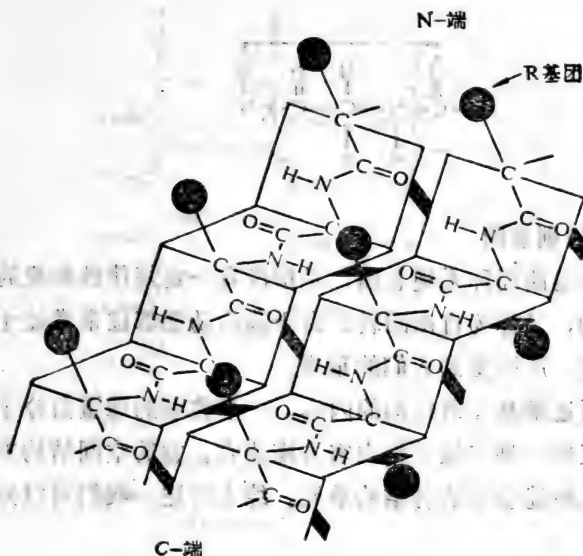


图 3-7 β -构象式褶皱式结构的图解

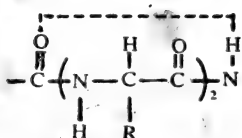
白质中。当 α -角蛋白用热水和稀碱等方法处理，或用外力拉直， α -角蛋白就转变为 β -角蛋白，此时 α -螺旋结构被拉长、伸展开来，氢键被破坏从而形成 β -折叠的空间结构。

在蛋白质中发现有由三段以上的肽链相互并排形成 β -折叠层状结构的，也有只有单独一段肽链伸展为 β -折叠结构的。

3. β -转角

β -转角是近年来发现在球蛋白分子中广泛存在的一种结构。在球状蛋白质分子的空间结构中，肽链经常会出现 180° 的回折，在肽链的这种回折角上就是 β -转角结构。又称为 β -回转、U形转折等。它是由一个氨基酸残基的 $\text{C}=\text{O}$ 与其后第三个氨基酸残基的 $\text{N}-\text{H}$ 之间形成氢键，氢键形成示意如下（虚线表示氢

键),



4. 无规则卷曲

无规则卷曲简称无规卷曲, 是指没有一定规律性构象的那部分肽链结构, 又称为自由回转。由于酶的功能部位常常处于这种构象区域里, 所以受到人们的重视。

以上所述都是二级结构的内容, 一个典型的球蛋白分子不能用单独的任何一种二级结构内容去描述它。它的空间结构中可能包括有以上所述叙过的各结构单元。综上所述, 我们可以知道蛋

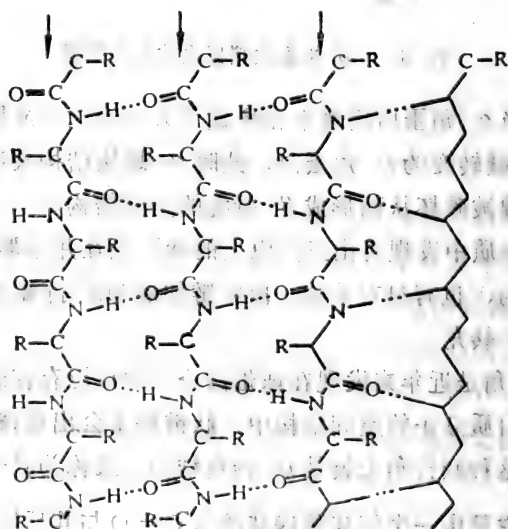


图 3-8 β -折叠结构(平行)

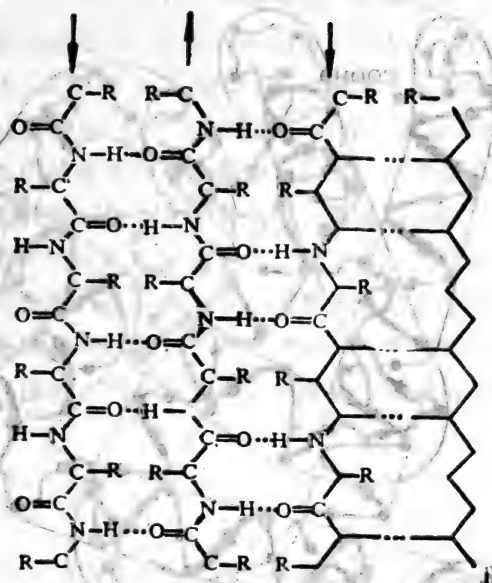


图 3-9 β -折叠结构(反平行)

白质的二级结构是指蛋白质多肽链本身的折叠和盘绕方式，它不包括侧链的构象内容。

(二) 蛋白质的三级结构

蛋白质的三级结构是指具有二级结构的多肽链进一步盘曲、折叠形成，包括全部主链、侧链在内的特征性构象。许多具备三级结构的多肽链都有近似球状或椭圆球状的外形，常称它们为球蛋白。例如哺乳动物肌肉中的肌红蛋白分子(见图 3-10)，整个肽链盘绕成八段长短不一的 α -螺旋，螺旋段之间由无规卷曲的肽链连接，无规卷曲肽段构成肽链的拐弯处，在C-末端也有一段无规卷曲的肽链。整个分子卷曲折叠成紧密的球状结构，血红素位于 α -螺旋肽段间的空穴中。所有具有高度生物学活性的蛋白质，如溶菌酶、核糖核酸酶、胰蛋白酶、肌红蛋白、胰岛素等都是球

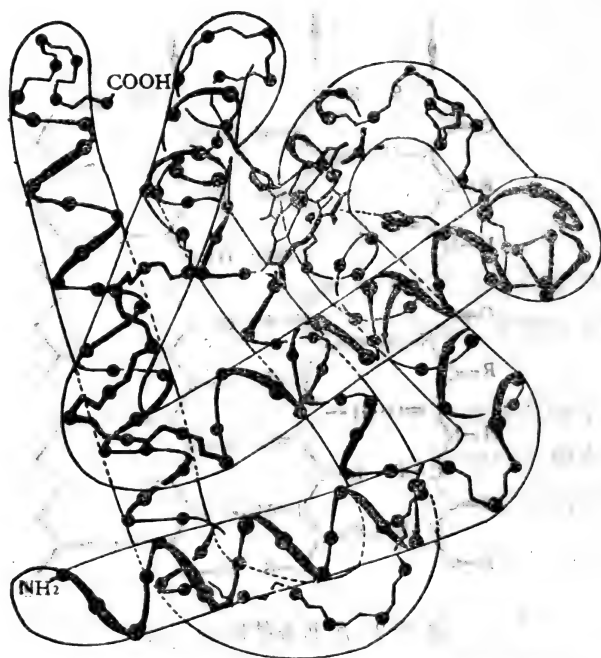


图 3-10 鲸肌红蛋白构象图

蛋白。换句话说，重要的生命活动对蛋白质的三级结构都有严格的要求。所以三级结构是蛋白质高级结构中一个至关重要的层次。

对单链蛋白质来说，三级结构就是该蛋白质分子的特征性空间结构，是蛋白质表现其生物学活性所必须的构象，一旦此构象受到破坏，蛋白质的活性也就丧失了。

在三级结构中，多肽链的盘曲、折叠是由蛋白质分子中各氨基酸残基的侧链（R 基团）相互作用来维持的，如多肽链的两个半胱氨酸残基的巯基氧化形成二硫键。二硫键是维持蛋白质三级结构诸种力量中的唯一的共价键，能把肽链的不同区段牢固地连

接在一起；而一些疏水性较强的氨基酸，如缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸等的一群非极性侧链则避开水，折叠于分子内部，借疏水力、范德华力(见图3-11)彼此聚集形成结构紧密的疏水核；一些有极性R-基团(如羧基、羟基、氨基等)的氨基酸，它们的残基的极性基团间形成氢键、盐键。由于极性基团的亲水性使大部分极性基团位于分子的表面，形成亲水区，并通过氢键的形成与水分子发生联系而溶于水。疏水力、范德华力、氢键和盐键都是非共价键，是弱的结合。虽然侧链之间的非共价键结合都是一些微弱的相互作用，但是由于参与这种相互作用的基团数目非常庞大，因此这些作用力仍然是维持三级结构稳定性的主要的力量。

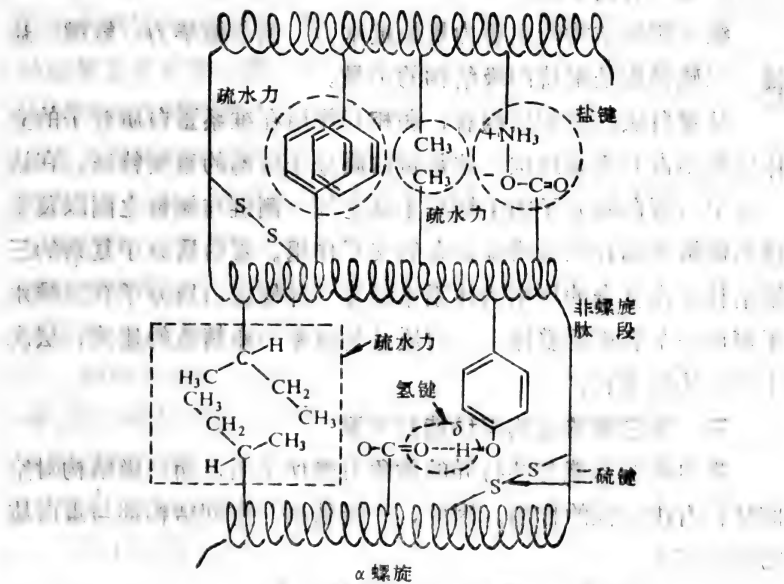


图 3-11 稳定蛋白质分子三级结构的主要作用力

(三) 蛋白质的四级结构

由两条或两条以上具有三级结构的多肽链聚合成特定构象的蛋白质分子称为寡聚蛋白。其中每一条多肽链称为亚基，亚基单独存在时无生物活力，只有互相聚合成特定构象时才具有完整的生物活性。蛋白质的四级结构是指亚基的数目、类型、各个亚基在寡聚蛋白中的空间排布、亚基之间的相互作用和接触部位的布局。一般来说，分子量在 55,000 以上的蛋白质几乎都有亚基。

在四级结构中亚基可以相同，也可以不同，如过氧化氢酶就是由四个相同的亚基构成的，而血红蛋白是由两种不同的 α -亚基和 β -亚基各一对聚合而成的。由相同亚基构成的四级结构，称为均一四级结构；由不同亚基构成的四级结构，称为非均一四级结构。蛋白质分子中亚基的种类一般是一种或两种但也有二种以上的，如生长因子。

维系四级结构的主要力量是疏水力，但范德华力，氢键、盐键、二硫键也是维持四级结构的力量。

从蛋白质的空间结构看，弱相互作用在维系蛋白质分子的立体结构中占有重要地位，这是蛋白质分子结构的重要特征。在这一水平，蛋白质分子的主链与主链之间、侧链与侧链之间以及主链与侧链之间存在着错综复杂的交互作用。蛋白质分子复杂的三维结构是由复杂的作用力体系来稳定，并使蛋白质分子在三维水平形成一个有机的整体。蛋白质结构就象一座精致的建筑，层次丰富、构造多彩。

三、蛋白质的结构与功能的关系

蛋白质的功能与其特异的构象有密切关系，而一级结构对空间结构有决定性的作用。因此，一级结构与空间结构都与蛋白质的功能有关。

(一) 蛋白质的一级结构与功能的关系

1. 种属差异与分子进化

对不同机体中表现同一功能的蛋白质的氨基酸排列顺序进行较详细的比较研究,发现种属差异是十分明显的。然而这些具有同一功能的蛋白质仍然具有大致相同的空间结构,这样的空间结构是由一些它们都具有的始终保持不变的氨基酸残基所构成的。下面以胰岛素和细胞色素C为例讨论蛋白质一级结构的种属差异与分子进化问题。

胰岛素 分析比较各种哺乳动物、鸟类和鱼类等动物的胰岛素,发现组成胰岛素分子的51个氨基酸残基的排列顺序大致相同,但有细微差异。其中只有24个氨基酸残基在不同来源的胰岛素中都具有,是始终不变的。例如A链和B链中的6个半胱氨酸残基的位置是属于始终不变的,这说明不同来源的胰岛素分子中,A、B链之间都有相同的连接方式,三对二硫键对于维持高级结构起着重要作用。其他一些不变的氨基酸绝大多数属于非极性的带有疏水侧链的氨基酸,X-衍射晶体结构分析结果证明,这些非极性的氨基酸对维持胰岛素分子的高级结构起着重要的作用,因此,不同动物来源的胰岛素的的空间结构大致相同。不同种属来源的胰岛素的差异突出表现在A链小环的8、9、10和B链30位氨基酸残基(表3-3)。说明这四个氨基酸残基的改变并不影响胰岛素的生物活性,对胰岛素的生物活性并不起决定作用。一般认为,可变氨基酸不处于蛋白质的“活性中心”或对维持“活性中心”的构象不重要,只是与免疫性有关。

细胞色素C 细胞色素C广泛存在于需氧生物细胞的线粒体中,是一种含有血红素辅基的单链蛋白质。它在生物氧化反应中起传递电子的作用。对不同种属生物的细胞色素C的一级结构研究结果,也同样表明具有相同功能的蛋白质在结构上的相似性。

脊椎动物的细胞色素C由104个氨基酸组成,分子量约13,000左右。现在已经对将近100个生物种属(包括动物、植物、真菌、细菌等)的细胞色素C的一级结构进行了测定和比较,发现

表 3-3 不同哺乳动物的胰岛素分子中的氨基酸差异

胰岛素来源	氨基酸排列顺序的差异			
	A ₁	A ₂	A ₁₀	B ₁₀
人	Thr	Ser	Ile	Thr
猪	Thr	Ser	Ile	Ala
牛	Ala	Ser	Val	Ala
狗	Thr	Ser	Ile	Ala
山羊	Ala	Gly	Val	Ala
马	Ala	Gly	Val	Ala
象	Thr	Gly	Val	Thr
抹香鲸	Thr	Ser	Ile	Ala
兔	Thr	Ser	Ile	Ser

亲缘关系越近,其结构越相似。例如人和黑猩猩的细胞色素C分子无论是104个氨基酸残基的种类、排列顺序和三级结构都相同,但人与马相比就有12处氨基酸残基不同;与金枪鱼相比有21处氨基酸残基不同;与小麦相比有35处氨基酸残基不同;与酵母菌相比有44处氨基酸残基不同。从表3-4所列数据可以推断出各个种属之间的亲缘关系上的远近,从而为生物进化的研究提供了有价值的依据。据此推算出来的生物种族系进化树与经典形态分类学的结果完全一致,辩证地说明生物进化过程中发生的变异和差别,不仅表现在各生物的形态结构上,也反映在蛋白质的结构上。

虽然各种生物在亲缘关系上有远有近,但细胞色素C中与功能密切有关部分的氨基酸顺序却有共同之处。在104个氨基酸残基中有35个氨基酸残基在各种生物中都是相同的,是不变的。其中14位和17位的二个半胱氨酸,18位的组氨酸和80位的甲硫氨酸以及48位酪氨酸和59位色氨酸都是不变的位置。研究证明,这几个氨基酸都是在保证细胞色素C功能的关键部位。如14位和17位上两个半胱氨酸与血红素共价连接(见图7-3),细胞色

表 3-4 不同生物与人的细胞色素c相比较的氨基酸差异数目

生物名称	和人不同的氨基酸数目	生物名称	和人不同的氨基酸数目
黑猩猩	0	响尾蛇	14
恒河猴	1	海龟	15
兔	9	金枪鱼	21
袋鼠	10	狗鱼	23
牛、猪、羊	10	小蝇	25
狗	11	蛾	31
驴	11	小麦	35
马	12	粗糙链孢霉	43
鸡、火鸡	13	酵母菌	44

素C是唯一和血红素辅基共价结合的蛋白质。血红素另一端的一个丙酸基与肽链上第48位的酪氨酸和59位的色氨酸以氢键相连。血红素上铁原子的6个配位价。除4个与卟啉环的4个氮原子以配位键相连外,另外2个就分别与18位组氨酸咪唑环的氮原子以及80位甲硫氨酸的硫原子配位相连。

2. 分子病

这是指某蛋白质分子的氨基酸排列顺序与正常有异的遗传病。镰刀状红细胞贫血病是最早认识的突出例子,其发病机理从一级结构上看,异常血红蛋白(HbS)与正常血红蛋白(HbA)的差别,仅是 β -链第六位氨基酸残基不同。HbA是谷氨酸, HbS是缬氨酸。

β -链N-端氨基酸排列顺序

1	2	3	4	5	6	7
HbA	Val	His	Leu	Thr	Pro	Glu
HbS	Val	His	Leu	Thr	Pro	Val

从空间结构上看, β -链第六位的残基置换发生在血红蛋白分子的表面上。这种结构上的变化,虽然不影响单个HbS分子的载 O_2 功能,但是,在红细胞中HbS的浓度很高的情况下,却促进了

HbS 分子之间的相互作用,使 HbS 分子一个接一个地线性凝集,产生溶解度较低的线性凝集物,致使红细胞成镰刀状(如图 3-12)。降低载氧功能。更重要的是患者血液粘滞性加大,造成末梢组织血流障碍,引起疼痛、坏死、出血等。同时这种细胞的机械脆性增高,易于破裂,可引起伴有脾肿大的溶血性贫血病。

现已发现异常血红蛋白有 370 多种。当然不是所有的异常血红蛋白都有症状表现,但它们都是基因突变所造成的,都引起血红蛋白分子一级结构的改变。



正常红细胞



镰刀形红细胞

图 3-12 镰刀状贫血的新月形红细胞

(二) 蛋白质构象与功能的关系

蛋白质分子的专一构象并不是固定不变的,当有些蛋白质表现其生理功能时,其构象发生一定的改变,从而使分子的性质也发生改变,以适应生理功能的需要,这种现象称为变构现象。例如血红蛋白是由四个亚基组合而成的寡聚蛋白,能以氧合血红蛋白和脱氧血红蛋白的形式可逆地完成其运氧功能。当它处于脱氧状态时,它与分子氧结合的速度很慢,但一旦有一个亚基的肽链与氧结合时,这一亚基中的铁原子的空间位置就发生移动,使原有的亚基与亚基之间的次级键被破坏,结果整个分子的构象发生改变,血红蛋白与氧的结合速度大大加快,这种由一个亚基的构象改变随之

引起其他亚基的构象的改变,结果使整个分子的构象、性质和功能发生改变的过程是最常见的一类变构作用。变构作用是生物体调节蛋白质功能的普遍现象,是在生物分子进化过程中出现的,它使得生物体能更好地适应环境。

第五节 蛋白质的重要性质

一、胶体性质

蛋白质是大分子高聚物,其分子量一般在10,000到1,000,000道尔顿之间(表3-5列举了一些蛋白质分子量),其分子直径在1—100 nm之间。因此蛋白质水溶液具有胶体的性质。如布朗运动、丁道尔现象、电泳现象以及具有吸附能力和不能透过半透膜等。蛋白质分子因体积大,不能透过半透膜,而溶液中的小分子物质则能透过半透膜进入水中,有关实验室和工厂常根据此性质将混有小分子化合物的蛋白质溶液置于如图3-13所示的装置中,经常换水,或把半透膜囊放入流水中即可将蛋白质与小分子

表 3-5 一些蛋白质的分子量、亚基数及亚基分子量

蛋白质名称	分子量(道尔顿)	亚 基	
		亚 基 数	分子量(道尔顿)
烟草花叶病毒蛋白	40,000,000	2130	17,500
RNA聚合酶	880,000	2	440,000
醇脱氢酶(酵母)	150,000	4	37,000
脲酶	483,000	6	83,000
天冬酰胺酶	255,000	2	139,000
血红蛋白(人)	64,500	4	16,000
α -淀粉酶	97,000	2	48,800
溶菌酶	14,300	1	14,300
RNA酶	13,688	1	13,683
细胞色素c	12,398	1	12,398
胰岛素	5,734	1	5,734

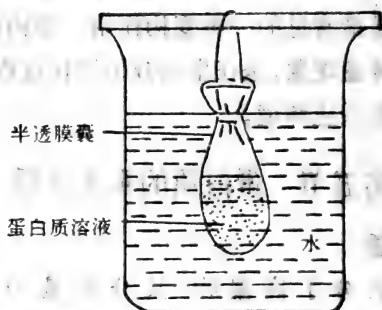


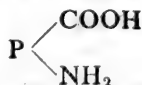
图 3-13 透析示意图

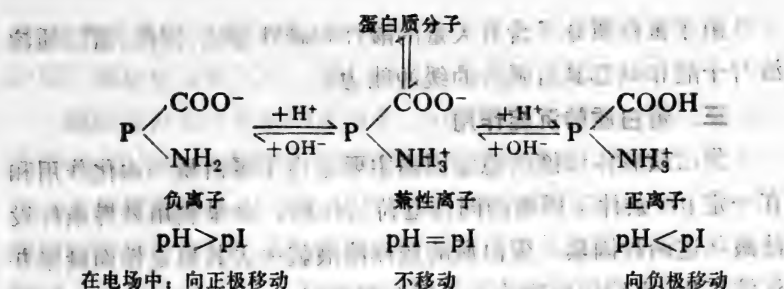
物质完全分开而得以纯化。这个过程称为“透析”，此方法称“透析法”，在提取蛋白质和酶时广泛应用。

由于蛋白质分子表面分布着许多极性基团，有很强的亲水性，能吸附所遇到的水，在蛋白质颗粒外面形成一层水膜（又称水化层）。水膜的存在使蛋白质颗粒相互隔开，颗粒之间不易因碰撞而聚成大颗粒。因此蛋白质的水溶液是比较稳定的亲水胶体。在酸性或碱性溶液中，蛋白质分子解离成带有相同电荷的正离子或负离子，使蛋白质颗粒之间相互排斥，保持一定距离，不致相互凝集沉淀，此时蛋白质亲水胶体更为稳定。

二、蛋白质的两性解离及等电点

蛋白质像氨基酸一样，具有两性解离及等电点，但组成蛋白质多肽链的氨基酸种类和数目众多，其侧链上各种基团如 α -NH₂、 γ -COOH、 β -COOH、咪唑基、酚基、巯基、胍基等的解离情况比较复杂。尽管如此，蛋白质总的解离和等电点仍可表示如下：





蛋白质分子中由于所含氨基酸种类、数目、空间构象以及所含解离基团不同，故不同蛋白质就有不同的等电点(见表 3-6)。

表 3-6 几种蛋白质的等电点

名 称	等电点	名 称	等电点
鱼精蛋白	12.00	胰岛素(牛)	5.5
溶菌酶	11.2	胰蛋白酶(牛)	5.0—8.0
细胞色素 c	10.3	明 胶	4.7—5.0
血红蛋白	7.07	鸡卵清蛋白	4.55—4.90
血清 γ -球蛋白(人)	5.8—6.6	胃蛋白酶	1.0—2.5

蛋白质在等电点时，以兼性离子的形式存在，其总电荷为零，这样的蛋白质颗粒在溶液中容易相互碰撞而凝集成大的颗粒，所以最不稳定，溶解度最小，易于沉淀析出。这一性质常在蛋白质的分离提纯时应用，同时在等电点时蛋白质的粘度、渗透压及导电能力均为最小。

蛋白质是两性离解物质，对蛋白质溶液通电时，带电荷的蛋白质粒子在电场中向带相反电荷的电极移动；这种现象称为蛋白质电泳。不同蛋白质在同一 pH 值溶液中所带的电荷数目及分子量不同，其在电场中移动的方向、速度就各有差别。因此，可用电泳法把蛋白质从混合液中分离出来。

由于蛋白质分子含有大量的酸性和碱性基团,因此,蛋白质溶液对于酸和碱都具有强大的缓冲能力。

三、蛋白质的沉淀作用

蛋白质胶体溶液的稳定因素主要是由于蛋白质的水化作用和在一定 pH 条件下所带的同性电荷的作用。如果利用外界条件设法破坏这两种因素,蛋白质的胶体溶液就失去其稳定性而凝聚并沉淀析出,这种作用称为蛋白质沉淀作用。

在蛋白质溶液中加入大量的电解质,如硫酸铵、硫酸钠和氯化钠等碱金属中性盐,用相反离子中和了蛋白质的电荷及破坏其水膜,能使蛋白质沉淀析出,这种用盐类使蛋白质沉淀析出的作用称为盐析作用。

不同蛋白质盐析时所需盐类浓度是不同的。因此可用不同浓度的盐溶液使不同蛋白质分段沉淀析出,这种作用称为分段盐析。盐析作用分离的蛋白质可保持原有的生理活性。因此盐析方法在生化分离技术上应用较广泛。

另外,重金属盐类(如、 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ag^{+} 、 Fe^{3+} 等所成盐类)和某些酸类(如苦味酸、鞣酸、三氯乙酸等)均为蛋白质的沉淀剂。前者是在碱性溶液中,与蛋白质结合成不溶性的重金属-蛋白质复合物而沉淀析出。后者则在酸性溶液中与蛋白质结合,生成蛋白盐复合物而沉淀析出。在急救重金属盐中毒(如氯化高汞)时,可给患者吃大量牛乳或蛋清,其目的就是使牛乳或蛋清中的蛋白质在消化道中与重金属离子结合成不溶解的变性蛋白质,从而阻止重金属离子被吸收进入体内,最后设法将沉淀物从肠胃中洗出。

四、蛋白质的变性

天然蛋白质分子均有致密的特殊空间结构,决定其特有的生理功能与活性。如果,蛋白质受外界各种因素的作用,使其维系空间结构的氢键等次级键受到破坏(共价键不变),引起蛋白质的空间结构改变,使天然蛋白质理化性质改变,并失去原有的生物活

性,这种作用称为蛋白质的变性作用,变性后的蛋白质称为变性蛋白质。例如鸡蛋煮熟后,蛋白质发生变性而凝固。

能使蛋白质变性的因素很多,如加热、紫外线、超声波、强烈的搅拌、振荡及各种放射线等物理因素均能引起蛋白质变性,因它们均具有较高能量,一方面促使蛋白质分子的剧烈运动,分子间相互碰撞而易于凝集;另一方面,这些能量也足以破坏蛋白质分子的氢键或其他次级键,从而引起蛋白质空间结构的改变而变性。而化学试剂中,重金属盐能与蛋白质侧链上的 $-\text{SH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、



$-\text{OH}$ 等基团作用,生成难溶于水的蛋白质盐,破坏蛋白质的构象而使之变性。强酸、强碱的作用主要是破坏蛋白质中的盐键和酯键等次级键。脲是一种常用的蛋白质变性剂,能破坏氢键等次级键。其他的化学试剂在不同程度上也起类似的作用。

蛋白质变性后,发生一系列的变化:

蛋白质变性后失去了天然蛋白质的结晶能力,由于氢键等次级键的破坏,原来卷曲在球状体内部的疏水基团暴露在表面,破坏了水膜,从而导致溶解度降低;由于蛋白质空间结构变为紊乱而松散的状态,使分子摩擦力增大而增加蛋白质的粘度。

蛋白质生理功能及活性的减弱或丧失,这是变性蛋白质的主要特征。例如,变性后具有催化功能的酶失去其催化活性,血红蛋白失去载送氧的功能,抗体蛋白失去免疫能力,激素蛋白失去调节代谢功能以及病毒蛋白失去致病能力等等。

蛋白质的变性作用如不过于剧烈,是一种可逆反应,这是因为蛋白质的一级结构没有被破坏。例如胃蛋白酶加热至 $80-90^{\circ}\text{C}$ 时,失去溶解性,也无消化蛋白质的能力。如加热时间不长,当再降低温度到 37°C ,则它又可恢复溶解性与消化蛋白质的能力。但随着变性时间的延长,条件加剧,变性程度也加深,如蛋白质的结絮作用和凝固作用就是变化程度深化的表现,这样就达到不可逆

的变性。

蛋白质变性在工、农、医各方面有着广泛的应用。如医疗上的酒精消毒、碘酒消毒，外科器皿的高温消毒、无菌室用紫外线灭菌等，都是由于这些化学试剂和物理因素能使细菌的蛋白质变性失去生理功能以致杀死有害细菌；而在制备蛋白质和酶制剂过程中，为了保持其天然活性，就必需防止发生变性作用，因此在操作过程中必须注意保持低温、避免强酸、强碱、重金属盐类，防止剧烈振荡等条件，相反，那些不需要的杂蛋白则可利用变性作用沉淀除去。

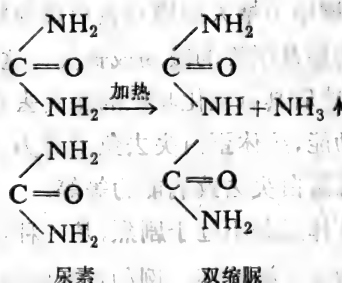
蛋白质变性作用的应用是多方面的，它不仅在工、农、医有着广泛的应用，而且在理论上对于阐明蛋白质结构与功能关系等问题具有重要意义。

五、颜色反应

蛋白质分子中含有肽键和氨基酸的各种侧链基团，可以与许多化合物反应而呈现各种颜色。重要的显色反应有：

(一) 双缩脲反应

将尿素(NH_2CONH_2)加热至 132°C ，则两分子尿素缩合生成双缩脲，并放出一分子氨。



在碱性溶液中双缩脲与硫酸铜结合生成紫红色复合物，这一显色反应称为双缩脲反应。

蛋白质分子中含有许多肽键 ($-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{NH}-$)，故可呈此反

应。肽键比较多时呈紫色,肽键较少时呈红色,二肽则不呈色。故可利用此反应的颜色变化以观察蛋白质的水解程度。通常用此反应定性地鉴定蛋白质,也可根据反应产生的颜色在 540 nm 处比色,定量测定蛋白质。

此反应并非蛋白质所特有,凡化合物中含有两个或两个以上—CONH—基团的都能呈此反应。

(二) 黄色反应

蛋白质溶液遇硝酸后,先生成白色沉淀,加热则变成黄色,加碱中和便转变为橙黄色。这是因为硝酸与蛋白质分子中所含有的芳香族氨基酸(如酪氨酸、苯丙氨酸及色氨酸)中的苯环起硝化作用而生成黄色的硝基苯衍生物。皮肤、指甲和毛发等物遇浓硝酸后会变成黄色就是此故。

思 考 题

1. 试简述蛋白质的生物学意义。
2. 蛋白质元素组成有何特点?
3. 写出 α -氨基酸的结构通式,并根据其结构通式说明其结构上的共同特点。
4. 决定氨基酸的 D-型和 L-型立体异构体的依据是什么? 为什么书写氨基酸时通常不标明其构型?
5. 根据分子结构特点,可把蛋白质分为哪两大类,各大类的特点是什么?
6. 什么是两性离子? 什么是等电点? 图示环境 pH 与氨基酸所带电荷的关系。
7. GSH 是什么? 有何功能?
8. 何谓蛋白质的一级结构? 何谓蛋白质的空间结构? 蛋白质一级结构与蛋白质的空间结构有何关系?
9. 蛋白质二级结构有哪些主要类型? 扼要说明它们的结构特点。
10. 球状蛋白的三级结构是如何形成的? 维持其稳定性的主要力量有哪些?

11. 何谓寡聚蛋白？略述其结构特点。
12. 什么是分子病？镰刀形红细胞贫血病的发病原因是什么？
13. 试述蛋白质水溶液稳定的原因。
14. 什么是蛋白质的变性？能使蛋白质变性的因素有哪些？

第四章 核酸化学

第一节 核酸的概念

一、核酸的生物学意义

早在 1868 年米歇尔 (F. Mischer) 就从外科绷带上的脓细胞的核中分离出一种有酸性的、含磷量极高的有机化合物, 他根据其来源于细胞核便称之为“核素”。到 1889 年, 阿尔特曼 (R. Altman) 把它定名为“核酸” (Nucleic acid), 并且知道这种物质广泛地存在于生物体内。核酸的发现虽然较早, 但其生物学作用, 却在很长的时期内都未被人们所认识, 直到 1944 年艾弗里 (Avery) 等在肺炎双球菌的转化实验中, 发现转化物质是 DNA, 首次证明了核酸是携带遗传信息的物质。这一发现, 大大推动了对核酸的结构与功能的研究。

遗传学家、生物化学家、微生物学家和物理学家们共同地把研究目标集中到了一个根本问题: 担负起遗传信息的载体的 DNA 的分子结构基础是什么? 在对 DNA 四种碱基的比例关系和对 DNA 的 X-射线衍射图进行深入分析之后, 华生 (Watson) 和克里克 (Crick) 于 1953 年提出了 DNA 双螺旋结构模型。它阐明了遗传信息的分子基础, 使整个遗传学包括基因 (一个 DNA 分子的片段) 的复制、表达和变异等各方面的研究深入到分子水平上, 使遗传学进入一个新的发展阶段——分子遗传学阶段。从此, 生物学发展到了分子生物学水平。于是我们可以从分子水平来探讨遗传和生命的本质。因此 DNA 双螺旋结构模型的提出被认为是本世纪在自然科学中的重大突破之一, 华生和克里克由于这一巨大的

功绩,而获得了 1962 年诺贝尔奖金的殊荣。

核酸的生物学功能主要是作为遗传的物质基础,具有贮存和传递遗传信息的功能,在生命的连续性中占特殊地位,是所有生物体最基本的成分,是生命活动的重要物质基础之一。随着对核酸研究的深入,发现它的功能是多方面的,近年来的研究发现少数几个 RNA 具有催化活性。

我国生物化学工作者于 1981 年人工合成了酵母丙氨酸转移核糖核酸分子,说明我国的核酸研究工作已接近世界先进水平。

二、核酸的种类和分布

(一) 种类

核酸按其所含的糖不同而分为核糖核酸(简称为 RNA)和脱氧核糖核酸(简称为 DNA)两类。

细胞中含三类主要的 RNA:

1. 信使 RNA (mRNA) 约占活细胞中 RNA 总量的 5%。mRNA 的种类很多。mRNA 在合成时转录了其模板 DNA 所携带的遗传信息,在蛋白质合成时,mRNA 结合到核糖体上传递 DNA 的遗传信息,作为决定蛋白质肽链中氨基酸排列顺序的模板。

2. 核糖体 RNA (rRNA) 约占活细胞中 RNA 总量的 80%,分子量较高,是细胞质中核糖体的组成成分。rRNA 约占核糖体总重量的 60%,其余 40%为蛋白质。核糖体是蛋白质合成的主要场所,在蛋白质合成过程中,mRNA 只有结合到核糖体上后,才能起模板作用。

一般来说,生物体越复杂,遗传信息量越大。生物进化程度越高,就需要有越多的遗传物质作为基础,每个细胞中 DNA 含量也越高(见表 4-1)。

3. 转移 RNA (tRNA) 约占活细胞中 RNA 总量的 15%,通常以游离状态存在于细胞质中,分子量较低,仅 25,000 左右。它的主要功能是在蛋白质生物合成过程中作为氨基酸的载体,起转

表 4-1 一些生物细胞和病毒的 DNA 含量

生物种类	DNA 1pg*/细胞 (或病毒粒)	核苷酸对数目(百万)
哺乳类	6	5,500
两栖类	7	6,500
鱼类	2	2,000
爬虫类	5	4,500
鸟类	2	2,000
甲壳类	3	2,800
软体动物	1.2	1,100
海绵	0.1	100
高等植物	2.5	2,300
霉菌	0.02—0.17	20
细菌	0.002—0.06	2
噬菌体 T ₄	0.00024	0.17
噬菌体 λ	0.00008	0.05

* 1pg = 1×10^{-12} g

移氨基酸的作用。tRNA 有多种,每一种 tRNA 专门携带一种特定的氨基酸。

(二) 核酸的分布

DNA 是染色体的主要成分,故主要存在于细胞核中,只有少量存在核外。如线粒体 DNA、叶绿体 DNA 和质粒 DNA。任何一种生物体细胞的 DNA 含量都是恒定的,不受外界环境、营养条件和细胞本身代谢状态的影响。由表 4-2 可看到一种生物体中各体细胞 DNA 的含量大致都是相同的。

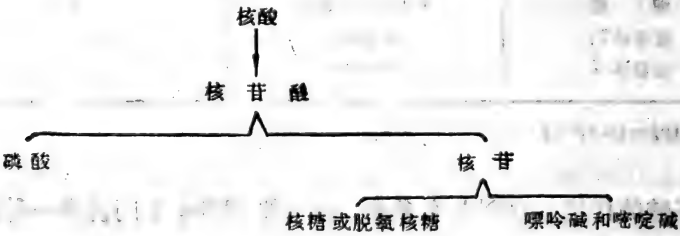
表 4-2 鸡细胞的 DNA 含量

组 织	心 脏	肾	肝	脾	胰	红 细 胞	精 细 胞 (单倍体)
DNA (pg/细胞)	2.45	2.20	2.66	2.55	2.61	2.49	1.26

RNA 主要存在于细胞质的核糖体和胞浆中,线粒体和叶绿体中也有少量。至于细胞核中, RNA 则大部分集中在核仁上,某些动物组织和啤酒酵母的染色体也有少量 RNA。DNA 和 RNA 在细胞内一般都是与蛋白质相结合,以核蛋白的形式存在。

第二节 核酸的组成成分

核酸和蛋白质一样也是高分子多聚物,构成核酸的基本单位是核苷酸,是由上百个至几千个核苷酸聚合而成的长链,这种长链又称多聚核苷酸。核苷酸可分解成磷酸,戊糖(核糖或脱氧核糖)和碱基(嘧啶、嘌呤)。故核酸逐步水解过程可图示如下:



DNA 和 RNA 组分上的异同列于表 4-3 中。

由表 4-3 可知, RNA 和 DNA 成分差别仅在于糖和一种嘧

表 4-3 RNA 和 DNA 组分上的区别

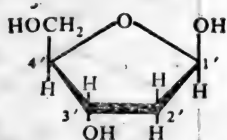
组 分 \ 类 别	DNA	RNA
磷 酸	磷 酸	磷酸
戊 糖	D-2-脱氧核糖	D-核糖
碱 基	腺嘌呤(Ade) 鸟嘌呤(Gua) 胞嘧啶(Cyt) 胸腺嘧啶(Thy)	腺嘌呤(Ade) 鸟嘌呤(Gua) 胞嘧啶(Cyt) 尿嘧啶(Ura)

啶。

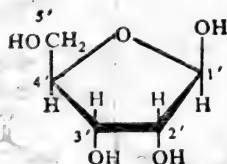
由上所示的核酸逐步水解过程图可看出，核苷酸作为核酸的基本结构单位，它可进一步水解成磷酸、核糖和含氮碱基。这些成分及其结构是我们讨论核酸的结构与功能的基础，故对其结构和性质作扼要的介绍。

一、核糖及脱氧核糖

RNA 所含的糖为 D-核糖，DNA 所含的糖为 D-2-脱氧核糖。其结构如下：



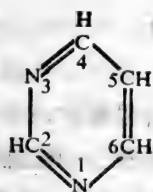
β -D-脱氧核糖



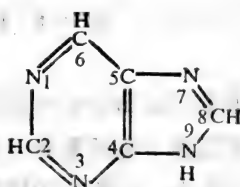
β -D-核糖

二、含氮碱

含氮碱是一类含氮的杂环化合物，具弱碱性，它的母体是嘧啶和嘌呤。



嘧啶



嘌呤

其中嘧啶衍生物有三种：即胞嘧啶（2-氧基-4-氨基嘧啶）、尿嘧啶（2,4-二氧基嘧啶）、胸腺嘧啶（5-甲基-2,4-二氧基嘧啶）；嘌呤衍生物有两种：即腺嘌呤（6-氨基嘌呤）和鸟嘌呤（2-氨基-6-氧基嘌呤）。五种碱基化合物的结构如图 4-1。

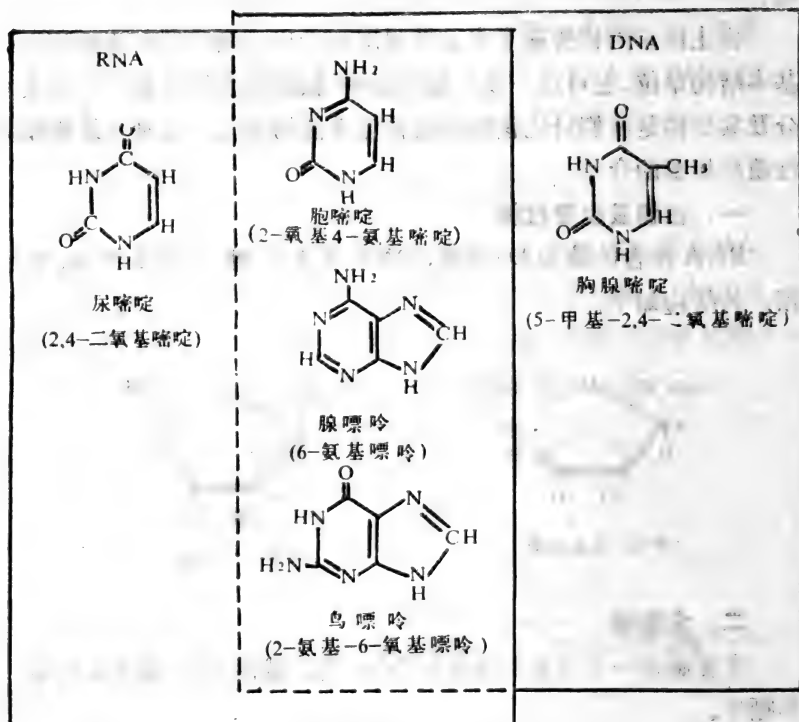


图 4-1 五种碱基的结构

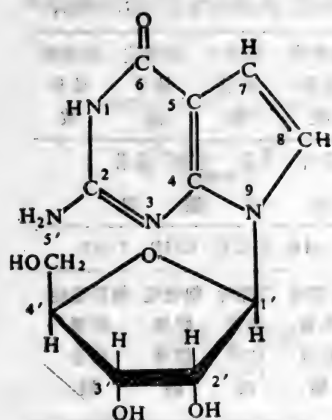
由图 4-1 可知 DNA 含胸腺嘧啶, 不含尿嘧啶, RNA 则相反。

除上述五种主要碱基外, 还有一些含量很少的修饰碱基, 由于修饰碱基含量少, 故称之为微量碱基或稀有碱基。核酸中的修饰碱基多是五种主要碱基的衍生物, 如二氢尿嘧啶等大多存在于 tRNA 中。但一般不超过 tRNA 中全部碱基含量的 5%。

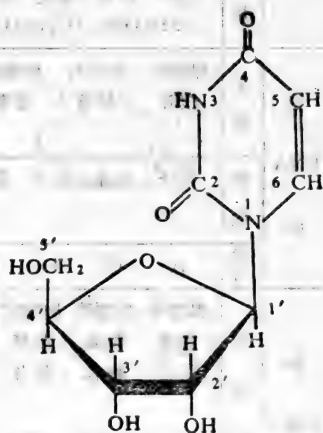
三、核苷

核苷是由戊糖和碱基缩合成的糖苷。糖的第一位碳原子 (C-1') 与嘧啶碱的第一位氮原子 (N₁) 或与嘌呤碱的第九位氮原子

(N₉)之间的 N—C 键,一般称之为 N-糖苷键。核酸分子中的糖苷键均为 β -糖苷键。应用 X-光衍射证明核苷中的碱基与糖环平面互相垂直



鸟嘌呤核苷(G)



尿嘧啶核苷(U)

根据核苷中所含戊糖不同,将核苷分成两大类:核糖核苷(或称核苷)和脱氧核糖核苷(或称脱氧核苷)。对核苷进行命名时,必须冠以碱基的名称。例如腺嘌呤核苷、腺嘌呤脱氧核苷等。表 4-4 为常见核苷的名称和代号。

除了表 4-4 列出的以及由上述的稀有碱基形成的核苷外,在核酸内也发现一些稀有核苷。如在 tRNA 中,核糖偶尔连接在尿嘧啶的第 5 位上,因此核糖与尿嘧啶之间是 C—C 键,而不是通常的 N—C 键。这种罕见的化合物称为假尿苷(ψ)。

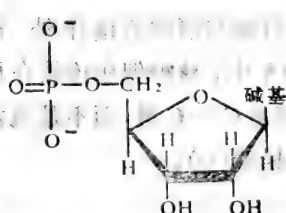
四、核苷酸

核苷酸是由核苷与磷酸缩合成的磷酸酯,基本的核苷酸列于表 4-4 中。这些核苷酸的磷酸基连接在核糖的第 5 位碳原子上,故为 5'-核苷酸。生物体内存在的游离核苷酸多是 5'-核苷酸。其

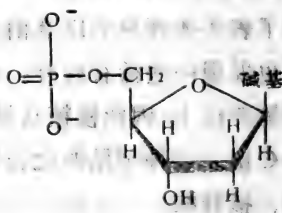
表 4-4 常见的几种核苷和核苷酸

		常见的核苷					常见的核苷酸				
		腺嘌呤 (Ade)	鸟嘌呤 (Gua)	胞嘧啶 (Cyt)	尿嘧啶 (Ura)	胸腺嘧啶 (Thy)	腺嘌呤 (Ade)	鸟嘌呤 (Gua)	胞嘧啶 (Cyt)	尿嘧啶 (Ura)	胸腺嘧啶 (Thy)
在 RNA 中	碱基										
	全称	腺嘌呤核苷	鸟嘌呤核苷	胞嘧啶核苷	尿嘧啶核苷		腺嘌呤核苷酸	鸟嘌呤核苷酸	胞嘧啶核苷酸	尿嘧啶核苷酸	
	简称	腺苷	鸟苷	胞苷	尿苷		腺苷酸	鸟苷酸	胞苷酸	尿苷酸	
		代号	A	G	C	U	AMP	GMP	CMP	UMP	
在 DNA 中	碱基	腺嘌呤 脱氧核苷	鸟嘌呤 脱氧核苷	胞嘧啶 脱氧核苷	胸腺嘧啶 脱氧核苷		腺嘌呤 脱氧核苷酸	鸟嘌呤 脱氧核苷酸	胞嘧啶 脱氧核苷酸	胸腺嘧啶 脱氧核苷酸	
	全称	腺嘌呤脱氧核苷	鸟嘌呤脱氧核苷	胞嘧啶脱氧核苷	胸腺嘧啶脱氧核苷		腺嘌呤脱氧核苷酸	鸟嘌呤脱氧核苷酸	胞嘧啶脱氧核苷酸	胸腺嘧啶脱氧核苷酸	
	简称	脱氧腺苷	脱氧鸟苷	脱氧胞苷	脱氧胸苷		脱氧腺苷酸	脱氧鸟苷酸	脱氧胞苷酸	脱氧胸苷酸	
		代号	dA	dG	dC	dT	dAMP	dGMP	dCMP	dTMP	

结构式表示如下：



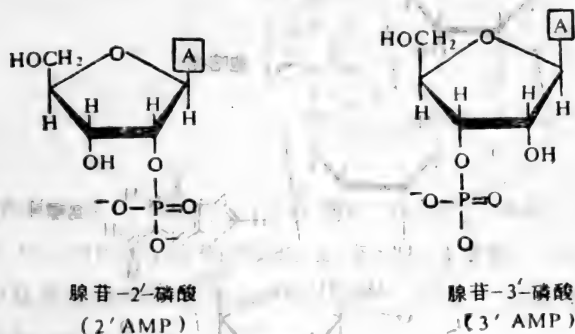
核苷-5-磷酸



脱氧核苷-5-磷酸

核糖在 2、3、5 位上各有一个自由羟基，能各自与磷酸缩合

以酯键相连,形成三种核苷的磷酸酯。如腺苷酸,当磷酸与核糖的第5位碳原子上羟基缩合时为腺苷-5'-磷酸(用5'-AMP表示),磷酸连接在核糖第3或2位碳原子上时,分别为3'-AMP或2'-AMP。至于脱氧核糖,由于第2位碳原子上没有羟基,因此与磷酸缩合形成的只有3'-及5'-脱氧核苷酸



核苷酸分子带有磷酸根,又含碱基,是两性电解质。在酸性溶液中不稳定,易破坏,在中性及碱性溶液中很稳定。

第三节 核酸的结构

一、核酸的一级结构(RNA 和 DNA 的一级结构)。

核酸是生物高分子多聚物,它的基本单位是核苷酸。实验证明核酸分子中各核苷酸之间均以一核苷酸的核糖或脱氧核糖第5位上的磷酸与另一核苷酸的戊糖的第3位上的羟基缩合成3',5'-磷酸二酯键(简称 $C_3'-O-P-O-C_5'$ 键)连接。这样彼此连接即可成为一个多核苷酸。由于多聚脱氧核苷酸中脱氧核糖上自由的3'-、5'-羟基都已形成磷酸二酯键,从而排除了DNA结构中形成分枝的可能。但RNA中却多了一个C-2'羟基;因而也可能产生磷酸酯键和可能有分枝的结构。但目前已知的全部DNA和RNA分子,都具有线性聚合物结构的特征,而无分枝结构。如图

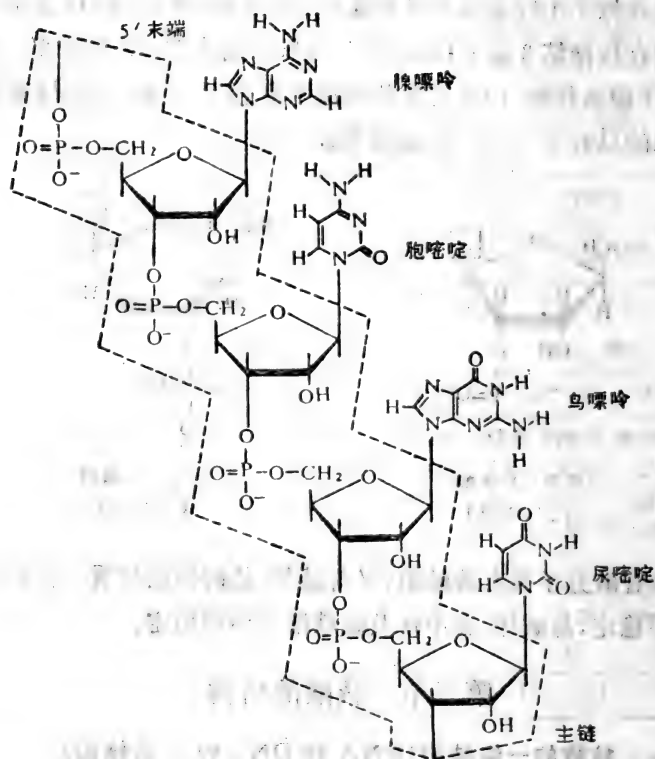
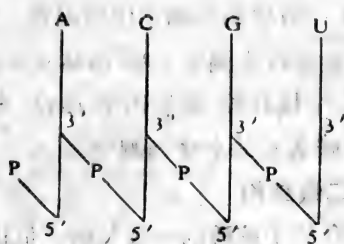


图 4-2 RNA 分子

4-2 所示。3'、5'-磷酸二酯键易受化学试剂或酶的水解作用而断裂。

核酸分子中常见的核苷酸虽然只有五种，但由于 DNA、RNA 都是大分子化合物，各种核酸中的核苷酸数由几十到几千万个，而且都按各种特定的排列顺序相连而成，因而核酸的种类可以有很多。和蛋白质分子一样，核酸分子也有一、二、三级结构，核酸分子的一级结构是指它的核苷酸残基排列顺序。对核酸来说，它的主

链是由糖和磷酸二酯构成的（如图 4-2 框框内所示）。核酸的一级结构可用下面简式表示：



简式的读向是由左向右，上面简式应读为：pApCpGpU。式中 A、C、G、U 代表各核苷酸的碱基，竖线代表戊糖，相邻两竖线上的 3'、5' 及其连接线和 P 表示 3'、5' 磷酸二酯键。碱基顺序是 5' → 3'，代表特定的化合物。

由图 4-2 可见核酸主链是由戊糖、磷酸两种成分交替重复的，故所有核酸的主链是相同的，不同核酸之间的区别，仅在于其侧链——碱基的不同。因此，亦可用碱基顺序表示核酸的一级结构，如用 pACGU……或 ACGU……表示。

在多核苷酸链两端的核苷酸为末端核苷酸，当核苷酸的核糖 5' 位为磷酸单酯或游离羟基时，这一端称为多核苷酸链的 5'-末端，若 3' 位为磷酸单酯或游离羟基，则称为多核苷酸链的 3'-末端。

DNA 是遗传信息的载体，体内蛋白质是在 DNA 所携带的遗传信息控制下合成的。DNA 所携带的遗传信息贮存在核酸自身的一级结构——即核苷酸排列顺序中。核苷酸排列顺序决定蛋白质的结构并表现出相应的遗传性状，因此核酸的核苷酸排列顺序及其研究方法是研究核酸的重要内容。

tRNA 分子较小，也比较容易提纯，所以这些核酸的一级结

构最先被测定出来。霍利(Holley)及其同事于1965年首先测出了酵母丙氨酸-tRNA的全部核苷酸顺序。因此获得了1968年的诺贝尔奖。DNA分子太大,最小的病毒DNA也约含5,000个核苷酸,因此DNA一级结构的测定比较困难,开展较晚。1977年桑格(Sanger)实验室首先测定了噬菌体 $\phi \times 174$ 单链DNA的全结构,共含5,375个核苷酸,他们还于1983年完成了 λ 噬菌体DNA的48,502个碱基对的全序列测定。

二、DNA的二级结构

上面我们已经介绍了核酸的一级结构,但这样的化学结构无法说明DNA是怎样准确地复制它自己或者如何贮存遗传信息的。因此人们企图从了解DNA分子的空间结构来回答这样的问题。在50年代初有两个重要的实验取得了进展。其一是1950年查盖夫(Chargaff)等发现他们所测的DNA分子中腺嘌呤碱基的数目总是与胸腺嘧啶碱基的数目相等(即 $A=T$);而鸟嘌呤碱基的数目总是与胞嘧啶碱基数目相等($G=C$),这些说明DNA分子中的碱基A与T,C与G是配对存在的。这就是有名的碱基配对规律;其二是1952年威尔金斯(Wilkins)拍摄了较清晰的DNA纤维的X-射线衍射图,发现DNA分子中有3.4 nm和0.34 nm的周期性变化,这意味着DNA分子可能存在着螺旋结构,在以上实验的基础上华生-克里克提出DNA双螺旋结构模型。

图4-3就是华生-克里克的DNA双螺旋结构模型。从这个模型中我们可以看到:由两条方向相反的多核苷酸链(即一条由 $3' \rightarrow 5'$,另一条由 $5' \rightarrow 3'$)互相平行地绕同一轴向右旋成双螺旋结构,直径为2 nm;当我们再把这个结构的局部放大,就可看出这种结构颇像一座螺旋形的楼梯,楼梯两侧扶手是两条多核苷酸链的糖-磷酸基团交替重复的骨架(见图4-3),糖环平面与纵轴平行。沿旋转方向,两个核苷酸间的夹角为 36° ,因此每一圈螺旋有10对核苷酸,螺距为高3.4 nm。而楼梯的梯级就是DNA的碱

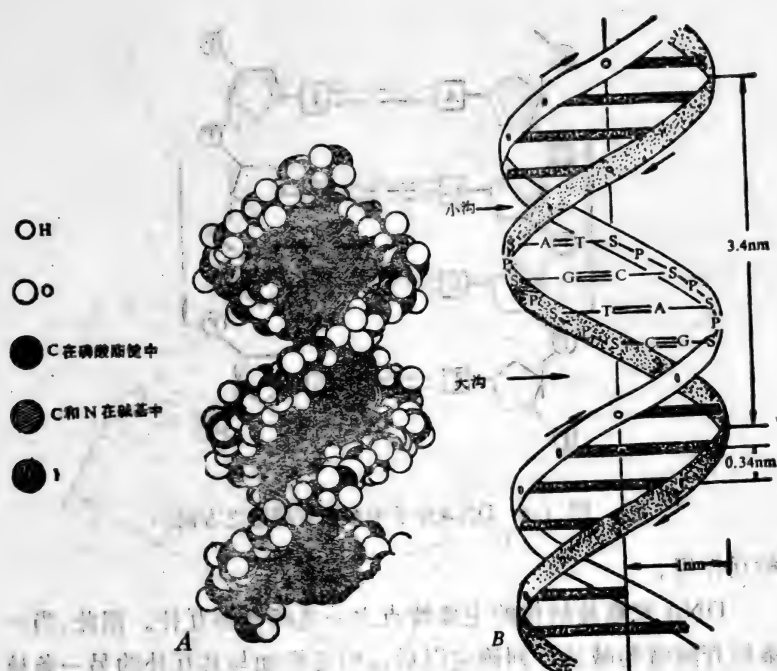


图 4-3 DNA 分子双螺旋结构模型(A)及其图解(B)

基对,碱基层叠于螺旋内侧,其平面与纵轴相垂直,碱基之间的堆积距为 0.34nm 。

两条链借碱基间形成的氢键连接在一起,根据双螺旋的直径要求,一条链上的嘌呤碱必须与另一条链上的嘧啶碱相匹配,根据碱基构象研究结果,确定为A与T相结合,其间形成两个氢键。G与C结合,其间形成三个氢键(见图4-4、图4-5),以上配对关系称碱基互补,这样的结构为查盖夫等人发现的碱基配对规律找到了正确的解释。

仔细研究图4-3时还可发现一大沟和一小沟沿分子卷绕并和磷酸二酯骨架平行。在这些沟中有特异的蛋白质与DNA分子

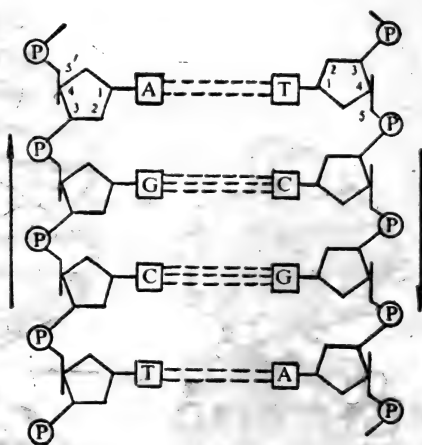


图 4-4 DNA分子中多核苷酸链之方向

相互作用。

DNA 双螺旋结构的主要特点之一是两条链互补。据此,当一条核苷酸链的碱基序列确定以后,即可推知与其互补的另一条核苷酸链的碱基序列。这就可以使我们理解到这么长的 DNA 链是如何进行正常的复制。除了它们能正确复制外,这个结构还能够提供转录、传送信息的分子基础。同时从互补的概念上也能够了解转录、转译和基因表达的问题。因此,DNA 复制、转录、反转录的分子基础都是碱基互补。(详细情况将在第十章和第十一章介绍),故碱基互补具有极其重要的生物学意义。

DNA 双螺旋结构是很稳定的,其稳定因素如下:

1. 碱基堆集力:很长一段时期,人们认为氢键是双螺旋构象稳定的因素,决定着螺旋的构象。但氢键的能量十分小,而且氢键的断裂往往是协同进行的,在一定条件下只要 DNA 分子中少数氢键断裂,其余氢键也几乎同时发生断裂。其次,游离的碱基(或核苷)即使在很高的浓度下也不会由于形成氢键而发生碱基配对,

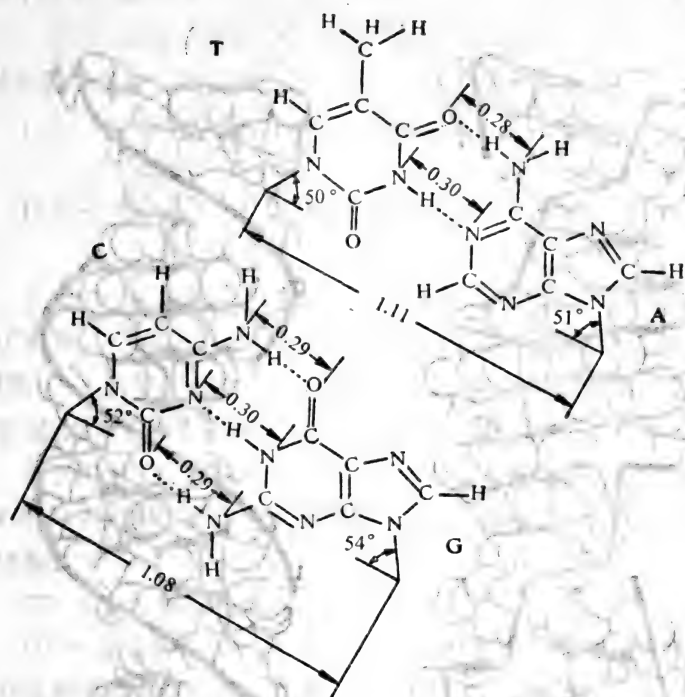


图 4-5 DNA 分子中的 A = T, G ≡ C 配对
(图中长度单位为 nm)

所以它并不是使 DNA 双螺旋结构稳定的主要力量。现在人们认为 DNA 分子中碱基的堆集力, 是使 DNA 双螺旋结构稳定的主要因素。碱基堆集力是芳香性碱基 π 电子间相互作用力引起的, 当碱基堆集成有规律的结构时就形成了疏水核心, 有利于互补碱基间形成氢键。

2. 氢键: 氢键虽然很弱但是其量很大, 所以是一个很重要的稳定因素。

3. 磷酸残基上的负电荷与介质中的阳离子之间形成的离子键也是使双螺旋结构稳定的力量, 它可减少双链间的静电斥力。与

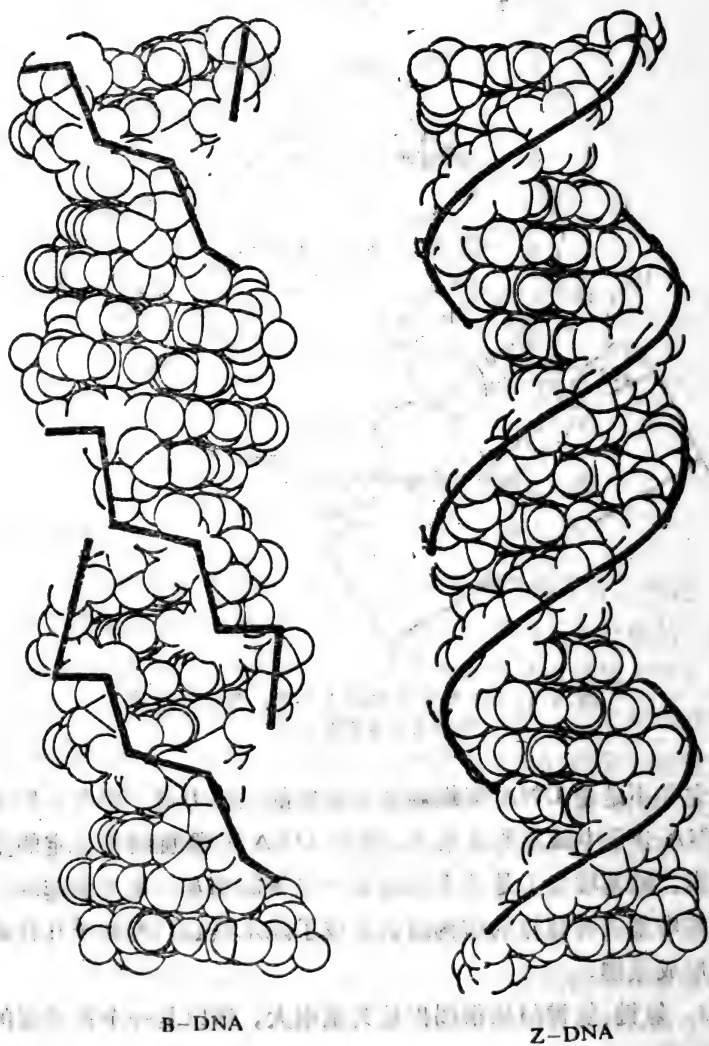
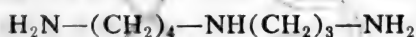


图 4-6 左旋DNA(Z-DNA)模型及华生-克里克双螺旋模型(B-DNA)的比较

DNA 结合的阳离子如 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} ，在细胞内是大量存在的。此外，原核细胞的 DNA 常与精胺及亚精胺结合，真核细胞 DNA 则与组蛋白相结合。



亚精胺



精胺

在 1979 年，美国的里奇 (Rich) 发现人工合成的 DNA 片段 d (CpGpCpGpCpG) 晶体呈左旋的结构，主链呈 Z 字形左向盘绕 (见图 4-6)，因而命名为 Z-DNA。这个发现引起各国科学家们的重视，因为它可能解释一些特殊的生命现象。

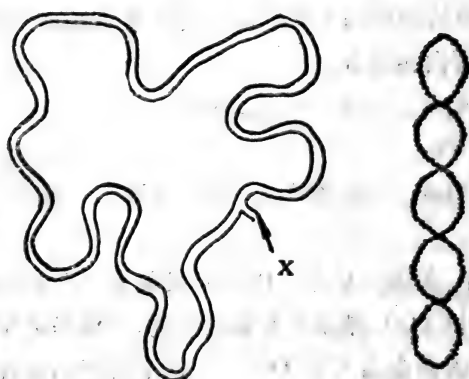
天然 DNA 大多数为线状双链结构，但某些病毒的噬菌体 $\phi \times 174$ 和 M_{13} 的 DNA 却是单链结构，而且其两端可互相连接成环状结构。

三、DNA 的三级结构

DNA 也象蛋白质一样在二级结构的基础上形成三级结构，即双螺旋再卷曲成超螺旋结构，如图 4-7。细胞核内的 DNA 是一种超螺旋结构，染色质 DNA 的结构极复杂，人的 DNA 大分子在染色质中反复折叠盘绕，据估计共压缩 8,000—10,000 倍。

四、RNA 的构象 (RNA 的二级结构和三级结构)

天然 RNA 分子是一条多核苷酸单链，它通过自身回折，使链内可以配对的一些碱基相遇，而由 A 与 U，G 与 C 之间形成氢键，并进一步形成较短的双螺旋结构，不能配对的碱基区形成突环 (见图 4-8)，所以 RNA 分子具有短的不完全的双螺旋区的二级结构 (见图 4-9) RNA 中双螺旋结构的稳定因素主要也是碱基堆集力和氢键，每段双螺旋区至少需要有 4—6 对碱基才能保持稳定。不同的 RNA 中，双螺旋区所占比例不同，一般说 RNA 有 40—70% 的核苷酸残基形成螺旋区。



双链开环状DNA

X 表示开裂处

A

闭环超螺旋

DNA

B

图 4-7 DNA 的三级结构示意图

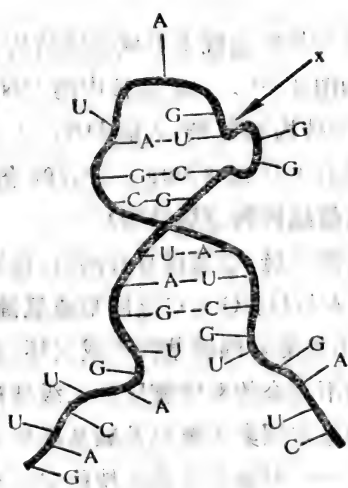


图 4-8 RNA 的二级结构 X
处表示螺旋的突环部分

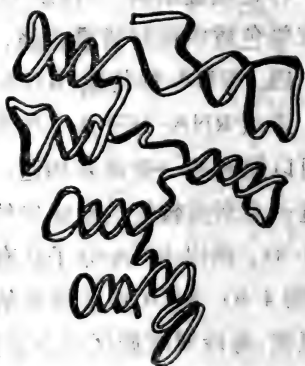


图 4-9 RNA 的二级结构
表示在一条多核苷酸链中有几个螺旋区

在已知的 RNA 中,以 tRNA 的结构研究得最多,了解也最清楚,tRNA 的种类繁多,迄今已研究的 tRNA 的一级结构有 100 多种,它们的碱基序列互不相同,然而所有的 tRNA 不论其来自动物、植物,还是微生物,都具有一些共同之处。

1. 所有的 tRNA 都拥有大约 80 个左右的核苷酸,分子量大约为 25,000,由一条 RNA 链组成。

2. 3'-端的碱基顺序是 CCA—OH; 5'-端呈磷酸化,通常是 pG。

3. 碱基组成中有较多(约 7—15 个)修饰碱基,这些碱基有的往往多一个甲基,而且是 RNA 合成之后通过修饰作用加上去的。

4. 1965 年有人根据酵母丙氨酸 tRNA 的核苷酸排列顺序和碱基配对规律,提出了 tRNA 多核苷酸链在平面卷曲成三叶草叶型的二级结构模型(见图 4-10)。在三叶草叶构象模型中约有 50% 的核苷酸成碱基对,并呈双螺旋结构。有 5 处不成碱基对(见图 4-10)。

3'-端 CCA 区,这是氨基酸结合的部位;

反密码环由 7 个核苷酸组成,其中 3 个核苷酸可以和 mRNA 上的三联体密码成互补,因此这 3 个核苷酸被称为反密码子;

T ψ C 环,这是核糖体的识别部位;除个别 tRNA 外,所有的 tRNA,此环必定有一个 T ψ C 碱基序列,故称为 T ψ C 环;

二氢尿嘧啶环,其功能是和活化酶结合并在蛋白质合成中起作用。此环以具有两个二氢尿嘧啶(核苷酸)分子为其特征;

额外环,是 tRNA 分类的重要指标,因其功能还不清楚,所以有额外环,多余环或肿块之称。这个环的大小很不一样,故有人称之为可变环。

近年来对酵母的苯丙氨酸 tRNA 进行 X-射线结晶学研究,发现其三级结构呈倒“L”形(见图 4-11),3'-端的 CCA 段在 L 形结构的一端,而反密码环则在另一端,二氢尿嘧啶环和 T ψ C 环在

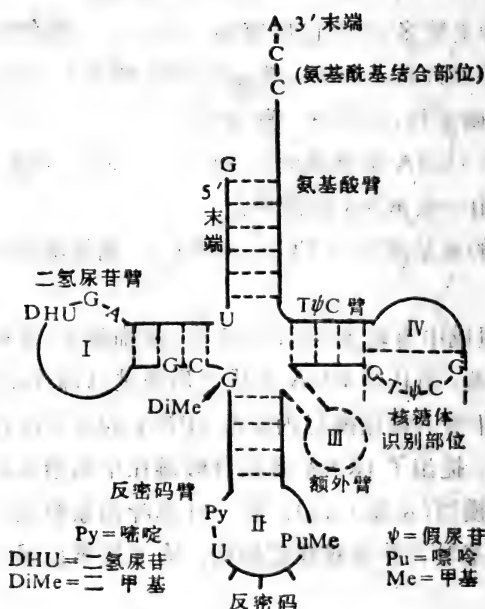


图 4-10 tRNA 的三叶草叶模型图

L形结构的拐角部。还发现，CCA 端和邻近的双螺旋部分与 tRNA 分子的其他部分并不呈很强的相互作用，这便使得它在氨基酸活化和蛋白质合成时可以起构象变化。

第四节 核酸的性质

一、一般的性质

核酸既有磷酸基，又有碱性基团，故为两性电解质，在一定的 pH 条件下，可以解离而带电荷，因此都有一定的等电点，能进行电泳。因磷酸的酸性较强，故核酸通常表现为酸性。核酸都是极性化合物，一般都溶于水，而不溶于有机溶剂，因此常用乙醇沉淀法来提取核酸(或核苷酸)。表 4-5 列出了核酸分子中磷的含量。

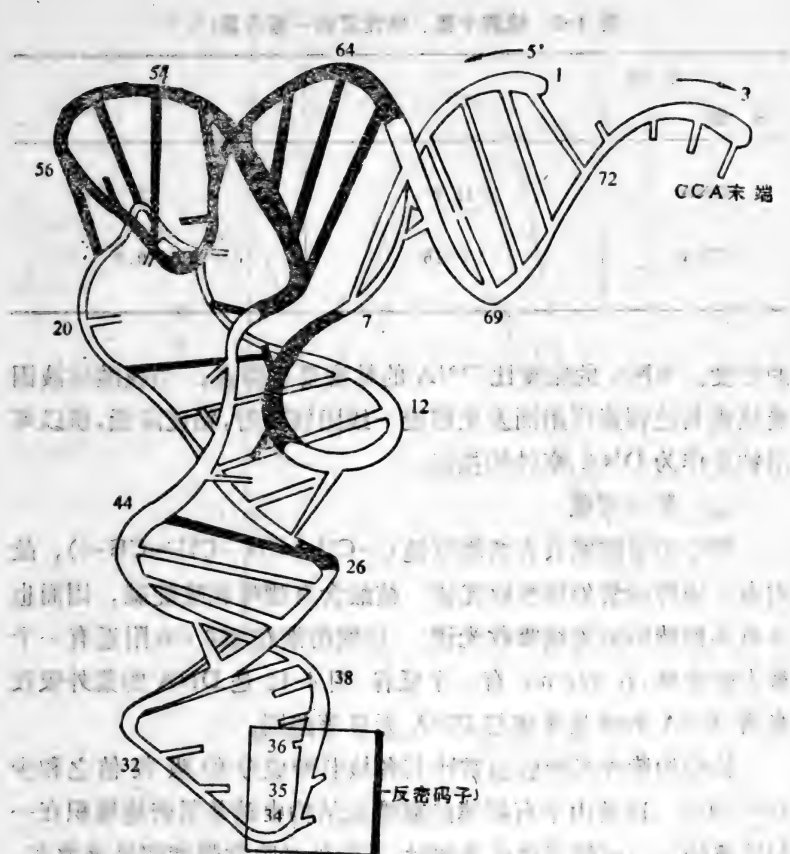


图 4-11 tRNA 三级结构的图解模型

核酸分子的旋光性很强，如 DNA 的比旋光值比组成它的单核苷酸的比旋值要大得多，但当核酸变性时，比旋值就大大降低，这是由于核酸分子的高度不对称性所致。

一般来说高分子溶液比普通溶液的粘度大得多，而高分子溶液中不规则线团分子比球形分子的粘度大，而线形分子的粘度更大。由于 DNA 分子极不对称，所以即使是极稀的溶液，也有极大

表 4-5 核酸中氮、磷元素的一般含量(%)

核 酸 \ 元 素	N	P
DNA	15.2	2
RNA	15—16	8.5—9.0

的粘度。RNA 的粘度比 DNA 的粘度要小得多。当核酸溶液因受热或其他因素作用而发生螺旋→线团转变时,粘度降低,所以可用粘度作为 DNA 变性的指标。

二、紫外吸收

嘌呤和嘧啶碱具有共轭双键($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$),故均有其独特的紫外线吸收光谱。核酸含有嘌呤和嘧啶碱,因而也各有其独特的紫外线吸收光谱。核酸溶液在 260 nm 附近有一个最大吸收峰,在 230 nm 有一个低谷,图 4-12 是 DNA 的紫外吸收光谱, RNA 的吸收光谱与 DNA 无显著差别。

核酸的紫外光吸收值常比其各核苷酸成分的吸收值之和少 30—40%,这是由于有规律的双螺旋结构中碱基紧密地堆积在一起造成的。当核酸变性或降解时,其紫外光吸收强度即显著增高,因此可根据核酸溶液的紫外吸收光谱来判断其是否变性(见图 4-12)。

由于核酸的最高吸收峰接近 260 nm,而蛋白质在这一光波区仅有很弱的吸收,因此可利用这一特性来判断核酸在细胞组织中的分布,细胞的紫外光照相主要是利用核酸的强烈吸收紫外光作用。

紫外光被 DNA 吸收最大的波长也是促进突变最有效的波长。这是由于它影响了核酸的结构之故。所以紫外光是一种有效

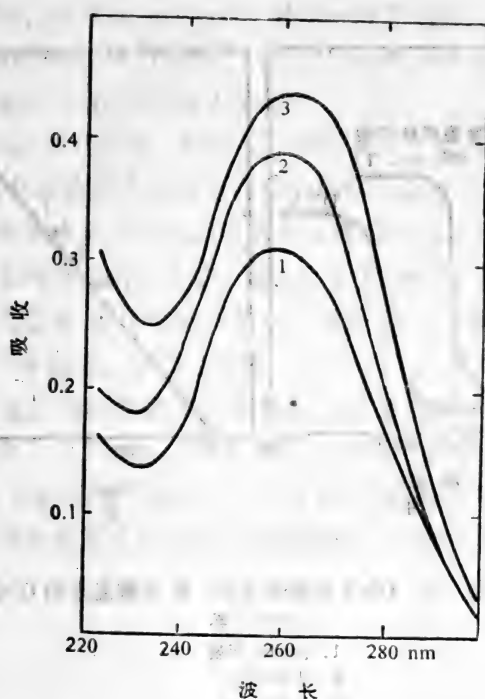


图 4-12 DNA 的紫外吸收光谱

1. 天然 DNA
2. 变性 DNA
3. 核苷酸总吸收值

的诱变剂,在抗菌素工业的育种工作中,曾用此法筛选出了好的菌种。如产生灰黄霉素的菌株,用紫外线处理后得到高产变种,产量提高 70% 以上。生产味精的 2305 菌种,经紫外线处理后得到腺嘌呤缺陷型,能产生肌苷酸,此缺陷型再经紫外线处理得腺嘌呤和甲硫氨酸的双重缺陷型,使肌苷酸产量又提高一步。

三、变性、复性与分子杂交

(一) 变性和复性

核酸和蛋白质一样有变性现象,当核酸分子在一定条件下受

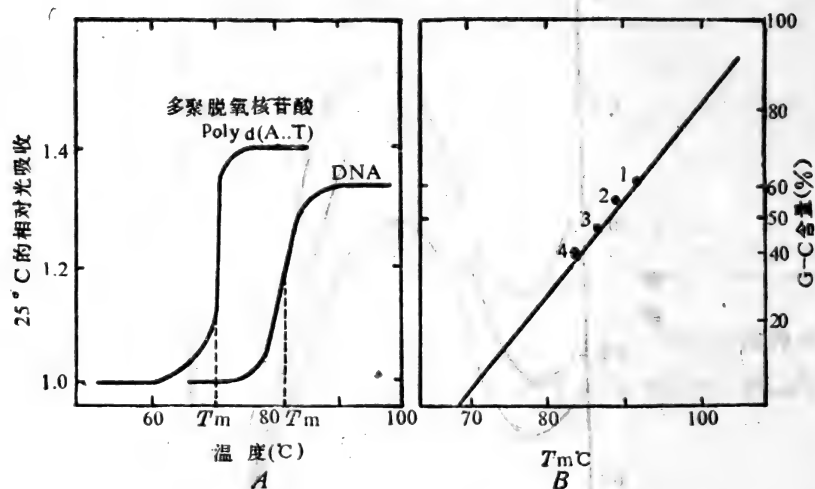


图 4-13 A DNA 的溶解曲线 B 溶解温度和 G-C 含量的关系

1. 沙门氏菌属
2. 大肠杆菌
3. 小牛胸腺
4. 酵母

到某些物理、化学的因素作用时,核酸分子中的氢键断裂,使有规律的双螺旋结构变成无规律的“线团”,此过程称为核酸的变性。核酸的变性并不涉及核苷酸之间的共价键的断裂。

引起核酸变性的因素主要是高温、酸、碱及变性剂,如尿素、甲酰胺等。凡是能破坏氢键和疏水键的因素都能导致双螺旋的破坏,导致变性。

由于碱基堆积效应,DNA 发色基团藏在双螺旋里面,变性后碱基都暴露出来了,所以变性过程也伴随着核酸光学性质的变化,紫外光吸收值升高。核酸变性后紫外光吸收值升高是跟踪变性过

程最方便手段。双螺旋 DNA 分子具有一定的刚性，变性之后成为无规律线团导致流体力学性质的变化。因此，DNA 变性后表现出溶液的粘度降低，沉降速度增加等。

DNA 的热变性不象一般球蛋白那样有一个很宽的温度范围，而象固体结晶物质那样发生在一个很窄的温度范围之内，一般把溶解温度的中点称为“熔点”或解链温度(T_m) (见图 4-13)。核酸变性不仅受到外界条件影响，也取决于 DNA 分子本身的稳定性，如 G-C 含量高，分子就比较稳定。另外，环状双链 DNA 比相应的线状 DNA 稳定。不容易变性。

G-C 含量愈高则核酸 T_m 值愈高，反之愈低。当 DNA 水溶液加热到温度高于 T_m 时，DNA 两条链分开。如果将此热溶液迅速冷却，两条单链继续保持分开。若缓慢冷却(称退火处理)，则两链可发生特异的重新组合而恢复成双螺旋(如图 4-14)，电泳等实

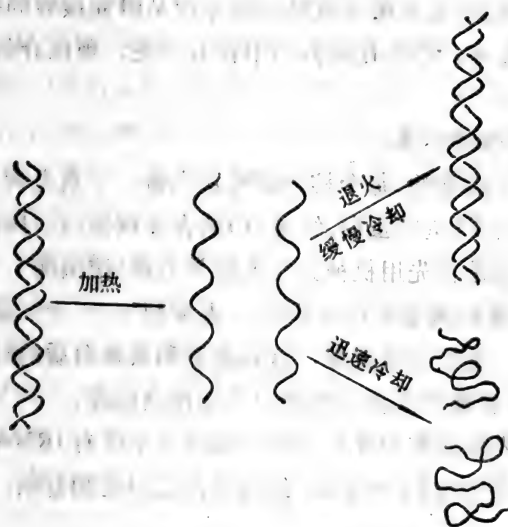


图 4-14 DNA 的热变性与复性

验证了这一事实。这种由于变性条件除去后，变性的二条互补链可以重新组合起来，恢复原有的双螺旋结构和性质的过程称为复性。

(二) 核酸分子的杂交

根据变性和复性原理，把 DNA 解开变成单链，然后让它与 RNA 或其他生物的单链 DNA 一起保温时，如果它们之间有碱基顺序的互补配对，则会生成 DNA-DNA 或 DNA-RNA 双链，这种方法称为核酸分子杂交，DNA-DNA, DNA-RNA 的杂交在核酸结构与功能的研究上是一项极其有用的技术。

RNA 也有螺旋——线团之间的转变，但是由于 RNA 只有局部的双螺旋区，所以这种转变不如 DNA 那样明显， T_m 值较低。在 RNA 中 tRNA 具有较多的双螺旋区，所以有较高的 T_m 值，双链 RNA 变性几乎与 DNA 的相同。

四、核酸的制备和测定*

核酸的制备，定量测定及组分的分析是研究核酸的基础，有关实验方法和技术，在生化实验书中皆有评述，现仅介绍其有关原理。

(一) 核酸的制备

核酸是多核苷酸，每个核苷酸残基均带一个负电荷，在细胞中常与碱性蛋白质(鱼精蛋白、组蛋白)结合成核蛋白。因此，提取核酸的一般原则是首先用机械方法或酶学方法(溶菌酶)，使细胞破碎。然后用蛋白质变性剂如苯酚、去垢剂——十二烷基磺酸钠(SDS)处理，使蛋白质沉淀，这种提取和去蛋白质的过程要重复几次。最后，将获得的核酸溶液用乙醇使之沉淀。

在细胞内核酸有 DNA、RNA，而 RNA 还有 tRNA、mRNA、rRNA，这就使对它们的提取、纯化过程变得更加复杂。因此没有

* 核酸的制备和测定可不讲述或自学

一种通用的方法可适用所有的核酸分离，不同的核酸应使用不同的方法。

1. DNA 的制备：DNA 的提取方法有多种，通常是 根据 DNA 核蛋白能溶于水及高浓度 ($1-2 \text{ mol/L}$) NaCl 溶液，当 NaCl 溶液浓度为 0.14 mol/L 时，溶解度最低，仅为水中溶解度的 $\frac{1}{100}$ 。而 RNA 核蛋白则易溶于 0.14 mol/L NaCl 溶液的原理进行分离。可先用 0.14 mol/L NaCl 溶液除去组织中的 RNA 核蛋白，然后用去污剂处理，使 DNA 与蛋白质分离(此法是目前最常用的方法，因为它可获得一种很少降解，而又可以复制 DNA 的制品，而且作为阳离子型去污剂既能解离核蛋白络合物，使它分离成为核酸与蛋白质，同时又能使蛋白质沉淀)。并用浓 NaCl (1 mol/L) 溶液溶解 DNA，再用氯仿-异戊醇将蛋白质沉淀除去，最后向 DNA 溶液加入乙醇，DNA 即呈丝状沉淀析出。

2. RNA 的制备：RNA 与 DNA 不同，RNA 蛋白质能溶于 0.14 mol/L NaCl 溶液中。因此可用此溶液提取。从提取液中除去蛋白质的方法有多种，常用的是苯酚法，即将提取液用苯酚处理并离心，RNA 即溶解于上层被苯酚饱和的水层中，而 DNA 和蛋白质则留在下层为水饱和的苯酚中。将上清液吸出，加入乙醇，RNA 即呈白色絮状沉淀析出。

(二) 核酸测定的原理

核酸的测定有多种方法，这是因为核酸所含的各种组成(磷酸、碱基、糖)能发生多种反应。现简介如下：

1. 定磷法：此法是分析核酸中所含的磷成分。其过程即先将样品用强酸消化，使有机磷转变成无机磷，再用一般测定无机磷的试剂显色。例如用钼酸铵与无机磷反应生成蓝色的磷钼酸，用比色计或分光光度计测定，最后根据无机磷的含量推算出核酸的含量。

2. 碱基测定:先将核酸水解释出碱基,用层析法进行测定;也可用紫外分光光度计在 260 nm 处测定样品的吸光度。然后根据标准曲线可以求出样品的核酸含量。紫外分析法的优点是不大受它物的干扰,灵敏度高,准确而迅速。

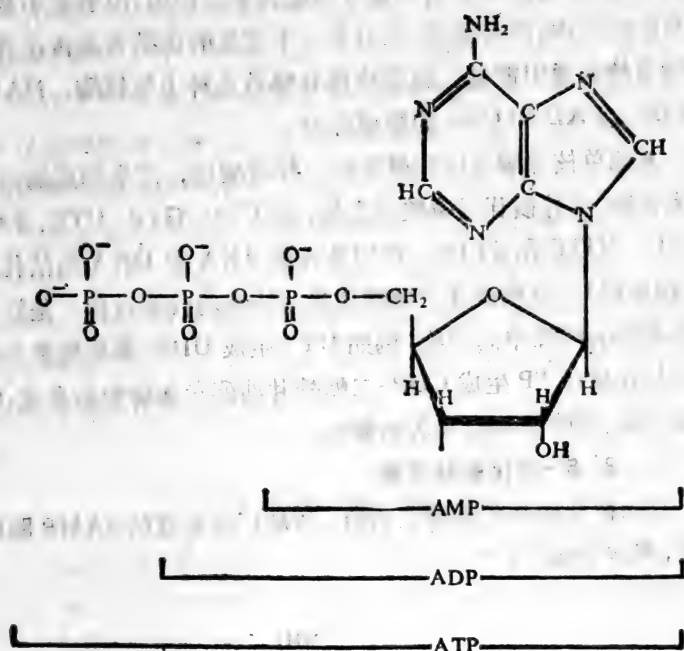
3. 用比色法测定核糖:在酸溶液中,RNA、DNA 的嘌呤核苷键易于水解断裂而产生具有戊糖醛基的水解产物,然后按测定戊糖方法将含 RNA 的样品与酸及 3,5-二羟甲苯反应,即产生绿色产物,再用比色法测定。脱氧核糖则可用二苯胺在酸性溶液中加热生成蓝色产物,再用比色法测定。

第五节 核苷酸的衍生物

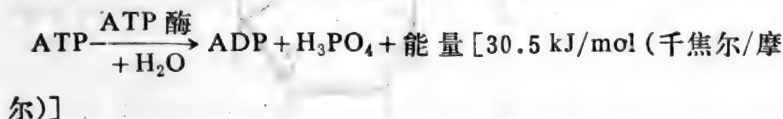
在生物体内,核苷酸除了作为核酸的基本组成外,也有以游离形式而存在,核苷酸及其衍生物的种类非常多。有生命活动不可缺少的辅酶: NAD^+ 、 NADP^+ 、 CoA 、 FAD 等;有核苷酸参与其他物质代谢时形成的活性中间体,如 UDP -葡萄糖等糖原、纤维素合成的中间物、 CDP -胆碱等磷脂合成的中间物……。现在已知生物体内核苷酸类的化合物在生物体的调节中起着重要作用,故核苷酸类药物也有一定的医疗效果。对某些重要的核苷酸及其衍生物现摘要介绍如下:

一、核苷 5'-多磷酸化合物

5'-腺嘌呤核苷-磷酸(5'-AMP)又可简称为腺苷一磷酸,它可以继续磷酸化,生成腺苷二磷酸(ADP),进一步生成腺苷三磷酸(ATP),它们的结构式如下:



ATP 分子中三个依次连接的磷酸基团中,连接在末端的两个磷酸基团水解时能放出 30.5 kJ/mol (千焦耳/摩尔) 能量(一般将含有 20.9 kJ/mol (千焦耳/摩尔) 以上能量的化合物称为高能磷酸化合物)。通常 ATP 只分解末端的一个高能键,而变成腺苷二磷酸(ADP),第二个高能磷酸键是较少被利用的。



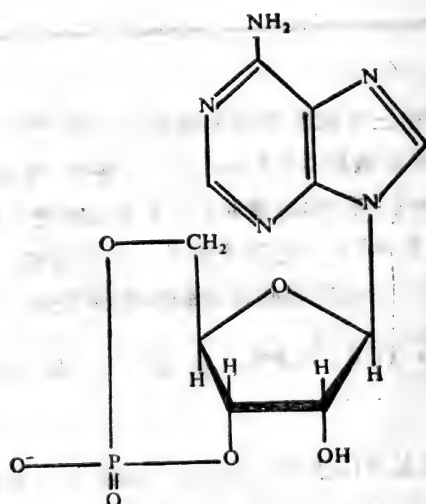
此放出的能量可以支持生理活动(如运动),也可用以促进生物化学反应(如蛋白质的合成)。体内物质氧化时所产生的能量一般不能直接被利用于生理活动,而是供给 ADP 重新磷酸化形成

ATP。ATP 虽然在提供能量方面起着重要作用,但它并不是化学能量的贮存库,严格地说,它只是一个能量的携带者或传递者。是生物系统的通用能量。腺嘌呤核苷酸是几种主要辅酶: NAD^+ 、 NADP^+ 、 FAD 和 CoA 的组成部分。

其他单核苷酸可以和腺苷酸一样磷酸化,产生相应的高能磷酸化合物,各种核苷三磷酸化合物,即 CTP 、 GTP 、 UTP 、 dATP 、 dCTP 、 dGTP 和 dTTP 。它们是合成 RNA 和 DNA 的活化前体(直接原料)。有些核苷三磷酸还参与特殊的代谢过程,是许多生物合成中的活性中间产物。例如 UTP 生成 UDP -葡萄糖参加糖的互变与合成; CTP 生成 CDP -二酯酰甘油酯参加磷脂的合成; GTP 是蛋白质、嘌呤生物合成所必需的。

二、3',5'-环化的核苷酸

有的核苷酸是代谢调节物质,如最广泛存在的 cAMP 即环腺苷酸,其结构如下:



3',5'-环腺苷酸

cAMP 在体内由 ATP 转化而来。由于分子中磷酸基团是和核糖分子中的 3' 和 5'-OH 形成环状,故也可称为 3',5'-环腺苷酸。

现在已经知道,很多激素的作用都通过 cAMP。它在生物体内不仅促进糖原分解,还影响多种酶活性,从而起调节体内生物化学过程和生理活动的作用。近年来又知道它与蛋白质合成有关。

比较重要的类似化合物还有 cGMP 环鸟苷-磷酸。现在认为它的作用是 cAMP 的拮抗物;在有对抗反应的体系中,如肌肉收缩和肌肉松弛;糖原合成与糖原分解,cGMP 和 cAMP 各在一方面进行调控。cAMP 及其衍生物,对心绞痛、心肌梗塞等冠心病发作症状有明显治疗效果。

思考题

1. 核酸有何生物学意义?
2. 翻译下列名词:mRNA、rRNA、tRNA,并说明它们各自的功能。
3. 绘简图示核酸逐步水解的过程。
4. 写出 DNA 和 RNA 的中文名称,并说明两者组成上的差别。
5. 什么是核苷?戊糖与含氮碱基是如何连接的?
6. 什么是核苷酸?核苷与磷酸是如何连接的?
7. 列表表示常见的核苷和核苷酸的名称和代号。
8. 什么是核酸的一级结构,如何表示核酸的一级结构?
9. 核酸的主链是什么?
10. 核酸中的碱基是怎样配对的?碱基配对之间的氢键有何特点?推测下列 DNA 链的互补链。
A C T G G T A C T T A
11. 试简述 tRNA 的三叶草叶型二级结构和三级结构型的特征。
12. 怎样根据核酸溶液的紫外吸收光谱来判断核酸是否变性和复性?为什么紫外光可用于育种?
13. 何谓 DNA 的变性、复性和分子杂交?
14. T_m 是什么?试说明其概念。
15. ATP、cAMP 是什么?它们各有何功能?

第五章 酶 学

酶与人类生活息息相关,远在 4,000 多年以前,我国夏禹时代就已经知道酿酒,周朝已经用风干磨碎的麦芽粉来制饴(麦芽糖),用麴来做酱、造醋,到春秋时代有用麴治腹泻的记载。但酶的发现却是 19 世纪的事了,其发现的功劳大概应归于法国化学家佩恩(Payen)、珀索(Persoz)。他俩于 1833 年从麦芽提取液中分离得到一种能水解淀粉的物质,他们称为淀粉酶,并指出了它的催化特性和热不稳定性,开始触及了酶的一些本质问题。

伯齐利厄斯(Berzelius)在 1835—1837 年提出了酶的催化作用的概念,可见对于酶的认识一开始就是和它具有催化作用的特性联系在一起的。后来屈内(Kühne)1877 年将这些生物催化剂统称为酶(enzyme),“Enzyme”一词来自希腊文,其意是“在酵母中”,这个词历史地反映出人类对酶性质方面的许多知识是通过对酵母及其他微生物的研究得到的。

第一节 酶的概念

一、酶的生物学意义

在化学实验里大家熟知催化剂可以加速化学反应的进行。如果你吃饭时多嚼些时候,会感到越嚼越甜;如果你消化不良,医生会给你吃多酶片,其奥秘就在于酶。因为我们口腔的唾液里有淀粉酶,它能把饭中的淀粉水解成为糊精和麦芽糖;多酶片的主要成分是胃蛋白酶、胰蛋白酶、淀粉酶,它们能帮助人们将吃进的蛋白质、淀粉水解成简单的物质,从而易被肠壁吸收。现在已知体内几乎所有的生化反应都是在不同的酶催化下进行。由于酶表现出特

异的催化功能,因此称为生物催化剂。故酶就是由活细胞产生的、以蛋白质为主要成分的生物催化剂。

二、酶的化学本质及其催化特点

(一) 酶是蛋白质

酶的化学本质问题在历史上曾有过激烈的争论,1926年萨姆纳(J. B. Sumner)自刀豆中分离出脲酶结晶,证明其为蛋白质,并提出酶的化学本质是蛋白质。1930—1936年间又分离得到胃蛋白酶、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶等多种晶体,从而肯定了酶是蛋白质的概念。近年来的研究已深入到酶蛋白的结构与功能的关系,现已搞清几十种酶的氨基酸排列顺序,而且已人工合成核糖核酸酶等。

(二) 酶的催化特点

酶和一般催化剂一样,仅能影响化学反应速度,而不改变反应的平衡点,并在反应前后本身不发生变化,但酶与一般催化剂相比具有如下特点:

1. 具有很高的催化效率

酶的催化效率极高,可比一般催化剂高 10^6 — 10^{13} 倍。例如,一分子过氧化氢酶,每分钟可催化 5,000,000 个 H_2O_2 分子分解为 H_2O 和 O_2 ,比铁粉催化 H_2O_2 分解的效率 10^{10} 倍。

酶催化反应的高效率是长期以来最吸引人的研究课题之一,它不仅有很高的理论意义,而且也具有重要的实际意义。

2. 高度的专一性

酶对其所催化物质(称为酶的底物或作用物)的选择性比其他催化剂严格得多。例如 H^+ 可催化淀粉、脂肪和蛋白质等物质水解,对其催化物质并无严格要求,而酶则不然。例如,淀粉酶只能催化淀粉水解,蛋白酶只能催化蛋白质水解,而不能催化其他物质水解。

3. 反应条件温和

酶催化反应是在常温、常压、近中性的溶液条件下进行。酶是蛋白质,故强酸、强碱、高温、高压都能使酶变性失活。

4. 酶的活性是受调节控制的

生命现象表现了它内部化学反应历程的有序性,这种有序性是受多方面的因素调节和控制的。正是因为受这些因素的调控,酶在生物体内才能准确地行使它的催化功能,才能使生命活动有条不紊地进行。

三、酶的命名

(一) 习惯命名法

酶的命名有习惯命名和系统命名两种方法,习惯命名的原则是:

1. 绝大多数酶是根据其所催化的底物命名的,如催化水解淀粉的称为淀粉酶,催化水解蛋白质的称为蛋白酶等。

2. 某些酶根据其所催化的反应性质来命名,如水解酶、脱氢酶、氧化酶、转移酶、异构酶等。

3. 有的酶结合上述两个原则来命名,例如琥珀酸脱氢酶是根据其作用底物是琥珀酸和所催化的反应为脱氢反应而命名的。

4. 在这些命名的基础上有时还加上酶的来源和其他特点以区别同一类酶。如胃蛋白酶和胰蛋白酶,指明其来源不同。碱性磷酸酶和酸性磷酸酶则指出这两种磷酸酶所要求的酸碱度不同等。

习惯命名比较简单,应用历史较长,但缺乏系统性,随着被认识的酶的数目日益增多,而出现许多问题。例如一酶数名或一名数酶。也有些酶命名不甚合理。为了适应酶学发展的新情况,避免命名的重复和混乱,国际酶学委员会于1961年提出了一个新的系统命名及系统分类的原则,已为国际生化协会所采用。

(二) 国际系统命名法

按照国际系统命名法原则,每一种酶有一个系统名称和习惯名称,习惯名称应简单,便于使用,系统名称应明确标明酶的底物

及催化反应的性质，现举例如下：

习惯名称	系统名称	催化反应
谷丙转氨酶	丙氨酸： α -酮戊二酸氨基转移酶	$L\text{-丙氨酸} + \alpha\text{-酮戊二酸} \longrightarrow$ $丙酮酸 + L\text{-谷氨酸}$
己糖激酶	ATP：己糖磷酸基转移酶	$ATP + \text{葡萄糖} \longrightarrow$ $6\text{-磷酸葡萄糖} + ADP$

由上例可见，在系统名称中应将两个底物“L-丙氨酸”及“ α -酮戊二酸”同时列出，并用“：”将它们隔开，它所催化的反应性质为氨基转移，也需要指明，所以它的系统名称为“L-丙氨酸： α -酮戊二酸氨基转移酶”。若底物之一是水时，可将水略去不写，如乙酰辅酶A水解酶（习惯名），可以写成乙酰辅酶A：水解酶（系统名），而不必写成乙酰辅酶A：水水解酶。另外底物的名称必须确切，例如有不同构型，则须注明L-、D-型及 α -、 β -型等。

四、酶的分类

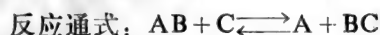
国际系统分类法将所有的酶促反应按反应性质分为六大类。

1. 氧化还原酶类 氧化还原酶类催化氧化还原反应。



如乳酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶、细胞色素氧化酶、过氧化氢酶等。

2. 转移酶类 转移酶类催化分子间基团的转移反应。



如转氨酶、转甲基酶等。

3. 水解酶类 水解酶类催化水解反应。



如唾液淀粉酶、胃蛋白酶、核酸酶、脂酶等。

4. 裂解酶（裂合酶或脱加酶）类 裂解酶类催化非水解地从

底物上移去一个基团或其逆反应。

反应通式： $AB \rightleftharpoons A + B$

如醛缩酶、柠檬酸合成酶。

5. 异构酶类 异构酶类催化各种同分异构体的相互转变。

反应通式： $A \rightleftharpoons B$

如磷酸葡萄糖异构酶、磷酸甘油酸磷酸变位酶等。

6. 合成酶类(或称连接酶类)催化两个分子合成一个分子,合成过程中伴有 ATP 分解的酶类。

反应通式： $A + B + ATP \rightleftharpoons AB + ADP + P_i$

如谷氨酰胺合成酶、谷胱甘肽合成酶、CTP 合成酶等。

在科技文献中,为严格起见,一般使用酶的系统名称,但是因某些系统名称太长,为了方便起见,有时仍使用酶的习惯名称。可参阅《酶学手册》。

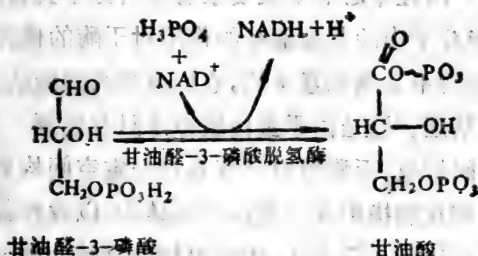
第二节 酶的组成和结构

一、酶的组成

和蛋白质一样,酶按其组成可分为单纯酶(单纯蛋白质)和结合酶(结合蛋白质)两类。有些酶如胃蛋白酶、胰脂肪酶等水解酶,其活性仅仅决定于它的蛋白质结构,属于单纯酶;而氧化还原酶类,如乳酸脱氢酶、细胞色素氧化酶等,则属于结合酶,由蛋白质(酶蛋白)和非蛋白质(辅因子)组成。酶蛋白与辅因子单独存在时,均无催化活力,只有二者结合组成复合物后才有活力称为全酶。所以全酶=酶蛋白+辅因子。

有些酶的辅因子是金属离子,有些酶的辅因子是有机分子,有些酶的活性既需要有机分子,也需要金属离子。在有机分子中那些与酶蛋白结合很紧密的称为辅基,有些与酶蛋白结合比较松,易与酶蛋白分开,例如可用透析法除去的则称为辅酶。但是辅基与辅酶二者之间并没有严格的界限,有人认为都用“辅酶”称之更有意义。

生物体内酶的种类繁多,现已知有 2,000 多种,但辅酶的种类较少,即同一种辅酶往往能与多种不同的酶蛋白结合组成催化功能不同的多种全酶,如辅酶 I (或称 NAD^+), 可作为许多脱氢酶 (如乳酸脱氢酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶等) 的辅酶。但一种酶蛋白只能与一种辅酶结合组成一种全酶,可见决定酶的专一性的是酶蛋白部分,辅酶在酶促反应中则通常作为电子、原子或某些化学基团的传递体。如甘油醛-3-磷酸脱氢酶只有当酶蛋白与辅酶 I 结合时,才能催化甘油醛-3-磷酸脱氢,其中辅酶 I 起着传递氢原子的作用,其反应可表示如下:



金属离子在酶分子中的作用,可能是作为酶活性部位组成成分,或帮助形成酶活性所必需的构象,或在酶与底物分子间起桥梁作用。

二、酶的结构

(一) 酶的活性中心

酶作为催化剂具有极大的催化效率和高度的专一性两大特点,这些都是与酶蛋白的结构有关的。研究得知酶分子很大,大约由 100—1000 个氨基酸组成,但它的催化活性却只和分子中的某一部位(或几个部位)的小区有密切关系。酶分子中这种能直接与底物结合,并与酶催化性能直接有关的一些基团所构成的微区,称为酶活性中心。对于简单蛋白质酶类来说,活性中心是由酶分子内少数氨基酸残基或这些残基上的某些基团组成,它们在酶蛋

白的一级结构上所处的位置可能相距甚远,可能位于同一肽链,也可能位于不同的肽链上。但当肽链盘折成一定空间构象时,它们在空间上就十分接近。对于结合酶类来说,辅酶分子或其上的某一部位结构,往往也是活性中心的组成部分。在有些含金属的酶中的金属常常参与催化作用,因此也属活性中心的部分。

活性中心按其功能一般又分为底物结合部位和催化部位。前者决定酶的专一性,后者决定酶的催化能力,底物的键在此部位被打断或形成新的键,从而发生一定的化学变化。但这种分法是相对的,因为有的基团兼有结合底物和催化底物发生反应的功能。值得注意的是,活性中心的形成要求酶蛋白分子具有一定的空间构象。因此,酶分子中的其他部分的作用对于酶的催化来说,可能是次要的,但绝对不是毫无意义的,它们至少为酶的活性中心的形成提供了结构基础。这是由于蛋白质分子只有达到一定大小,才能形成一定空间构象,而酶蛋白只有具有一定空间构象,才能使活性中心各基团相互靠拢形成一定的空间结构,以发挥其催化效能,同时蛋白质只有达到一定大小,才能保持稳定。由上可知,酶的活性中心与酶蛋白的空间构象的完整性之间,是辩证统一的关系。当外界物理化学因素破坏了酶的结构时,首先就可能影响活性中心的特定结构,结果就必然影响酶活力。

(二) 单体酶、寡聚酶和多酶复合体

按酶蛋白结构的特点,酶又可分为:单体酶、寡聚酶和多酶复合体。

1. 单体酶只有一条肽链,分子量大约为 13,000—35,000,这类酶很少,一般都是水解酶,例如胰凝乳蛋白酶、溶菌酶、核糖核酸酶等。

2. 寡聚酶 由两个以上亚基(有时可多到 60 或更多亚基)组成的酶称为寡聚酶。寡聚酶的分子量由 35,000—几百万,其亚基的组成可以是相同的,如糖酵解中的酶,各都含有不等数目的相同

亚基(见表 5-1);也可以是不同的。这类寡聚酶中又可分为双功能寡聚酶、含有专一性的非酶蛋白亚基的寡聚酶和具有底物载体亚基的寡聚酶。目前人们倾向于支持这种看法:单体酶是例外的现象,寡聚酶则是更为普遍的。

表 5-1 寡 聚 酶

酶	亚 基		分 子 量
	数 目	分 子 量	
磷酸化酶 a	4	92,500	370,000
己糖激酶	4	27,500	102,000
果糖磷酸激酶	2	78,000	190,000
果糖二磷酸酶	2	29,000	130,000
	2	37,000	
醛缩酶	4	40,000	160,000
3-磷酸甘油醛脱氢酶	2	72,000	140,000
烯醇化酶	2	41,000	82,000
肌酸激酶	2	40,000	80,000
乳酸脱氢酶	4	35,000	150,000
丙酮酸激酶	4	57,000	237,000

从寡聚酶中亚基聚合作用来看:首先,亚基聚合与酶的专一性有关。因为亚基的聚合可以维系酶的专一性构象,所以当寡聚酶解聚成亚基以后,活性便会丧失。其次,与酶的活性中心的形成有关。

寡聚酶在机体代谢活动中的作用是多方面的,现在研究较多的是它们的亚基之间发生的缔合解离变化在调节、控制某些代谢过程中所起的重要作用。

3. 多酶体系与多酶复合体

细胞中的许多酶常常是在一个连续的反应链中起作用,也就是前一个酶促反应的产物恰是后一个酶促反应的底物。在完整细胞内的某一代谢过程中,由几个酶形成的反应链体系,称为“多酶

体系”。

有的多酶体系中的酶，在细胞质中以可溶性的形式各作为独立的单体存在，它们之间没有结构上的联系(见图 5-1)，如糖酵解过程的酶：

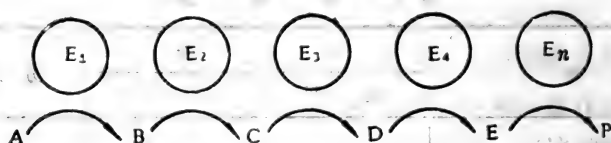
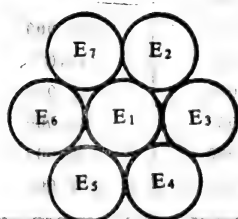


图 5-1 分散多酶体系与中间产物示意图



更多的多酶体系，结构化程度较高，体系中各个酶彼此有机地组合在一起，精巧地镶嵌成一定的结构，形成多酶复合体(见图 5-2)。例如细菌及动物组织中的丙酮酸脱氢酶复合体、酵母及动物组织中的脂肪合成酶复合体。

图 5-2 多酶复合体示意图 还有一些多酶体系，它们定位于细胞器结构之上，如核糖体的蛋白质生物合成酶系，线粒体上的电子传递体等。

多酶体系中各种酶精巧地镶嵌成一定的结构，更有利于化学反应的进行，可以提高酶的催化效率，同时亦便于机体对酶的调控。

(三) 同工酶

同工(功)酶是指能催化相同的化学反应，但蛋白质分子结构不同的一组酶。它们的溶解度、分子量和对激活剂、抑制剂的反应都可能不同。例如乳酸脱氢酶为四聚体，由M和H两种亚基所组成，它有 M_4 、 M_3H 、 M_2H_2 、 MH_3 和 H_4 等五种分子形式，但都催化 L-

乳酸脱氢反应。具有四级结构是酶能以多种分子形式存在的基础。现在已知许多种酶都有同工酶,同工酶广泛存在于动植物界及微生物中,现已知有一百多种。同工酶是一个很有用的研究工具,利用它可以研究许多生物学问题。

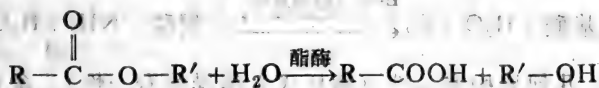
第三节 酶的特异性(专一性)

上面已述及酶对所作用的物质(即酶的底物或作用物)有严格的选择性。一种酶只能作用于一种物质,或一类分子结构相似的物质,使其进行一定的化学反应,产生一定的反应产物,这种特性称为酶的专一性。酶的专一性是它与非生物催化剂的最重要区别之一。但是酶的种类繁多,各种酶专一性程度有很大的差别。据此可以归纳为三大类:

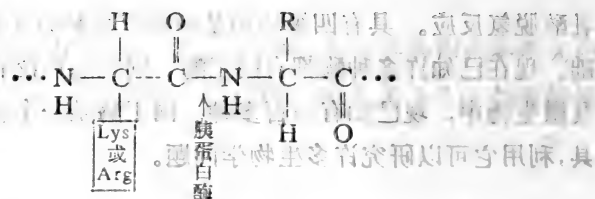
一、相对专一性

有些酶对底物的专一性的程度较低,它能作用于一类化合物或化学键,称为相对专一性。相对专一性又可分为两类:

(一) 键的专一性 有些酶只对某一种化学键起作用,而对组成键的基团要求不严。例如酯酶几乎能水解所有的有机酸和醇形成的酯键(只是对不同酯类水解速度不同)。对酯键两端的R和R'基团没有严格要求,这类酶对底物结构的要求最低。

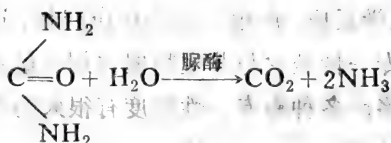


(二) 基团专一性 有些酶对底物除了要求有特殊的化学键外,对化学键一侧或两侧的基团也有一定的要求。例如胰蛋白酶的基团专一性是水解肽链中由碱性氨基酸(精氨酸或赖氨酸)的羧基组成的肽键,而对肽键氨基端的氨基酸残基没有什么要求。



二、绝对专一性

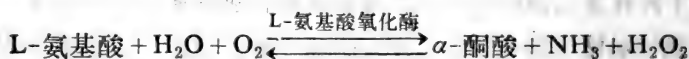
有些酶只能催化一种底物进行一种反应，这种专一性称为绝对专一性。例如，脲酶只能催化尿素进行水解生成二氧化碳和氨。



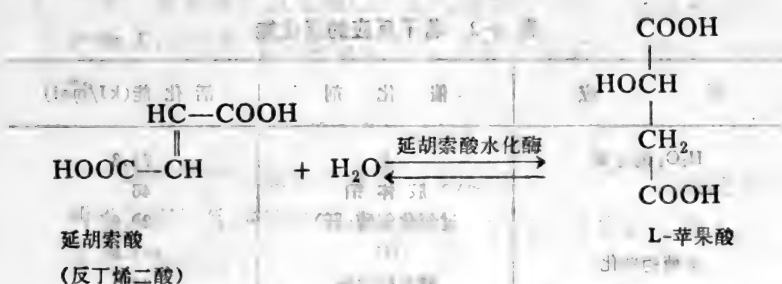
它不能催化尿素以外的任何物质发生水解，也不能使尿素发生其他反应。

三、立体异构专一性

(一) 旋光异构专一性 当底物具有旋光异构体时，酶只能作用于其中的一种。这种对于旋光异构体底物的高度专一性，称为“旋光异构专一性”，它是酶反应中相当普遍的现象。例如 L-氨基酸氧化酶只能催化 L-氨基酸氧化，而对 D-氨基酸无作用。因此



(二) 几何异构专一性 (顺反式立体异构专一性) 含有双键的物质有顺、反两种异构体，有些酶只能作用其中之一，这种异构专一性称为几何异构专一性。例如延胡索酸(水化)酶，只能催化延胡索酸(反丁烯二酸)加水变成苹果酸，或催化逆反应生成反丁烯二酸；而不能催化顺丁烯二酸的水合作用，也不能催化逆反应生成顺丁烯二酸。



酶的专一性对保证体内代谢的正常进行是十分重要的，因为细胞内存在着许多酶和底物，如果酶的作用没有专一性，任何酶都能作用于任何底物，各种反应就无法调节和控制，任其变化，代谢杂乱无章，生命活动则无法维持。酶的专一性确保了体内代谢反应能按一定的方向和途径有条不紊地进行，这是维持生命活动的基础。

第四节 酶的作用原理

一、酶的催化作用与分子活化能的关系

要使化学反应能够发生，反应物分子必须发生碰撞。但是，并不是所有分子碰撞都是有效的，只有那些具有足够能量即达到或超过某一定限度能量(称为“能阈”)的反应物分子碰撞之后，才能发生化学反应。这种碰撞称为有效碰撞，能发生有效碰撞的分子称为“活化分子”。活化分子越多，反应速度越快。

为了使反应物分子超越反应的能阈变为活化分子，需从外部供给的额外能量称为活化能。反应的能阈越低即需要的活化能越少，反应就越易进行。催化剂的作用就在于降低反应的能阈，即减少所需的活化能，从而使反应加速进行(见图 5-3)。酶作为一种高效能的催化剂，与一般催化剂比较，可使反应的能阈降得更低，所需的活化能大为减少(见表 5-2)。所以，酶的催化效率比一般催化剂高得多，而且能在温和的条件下充分发挥其催化功

表 5-2 若干反应的活化能

反 应	催 化 剂	活 化 能(kJ/mol)
H_2O_2 的分解 $HO-OH$	无	75.3
	胶 体 铂	46
	过氧化氢酶(肝)	20.9
蔗糖的转化	H^+	108.8
	酵母转化酶	48.1
	麦芽糖转化酶	54.4

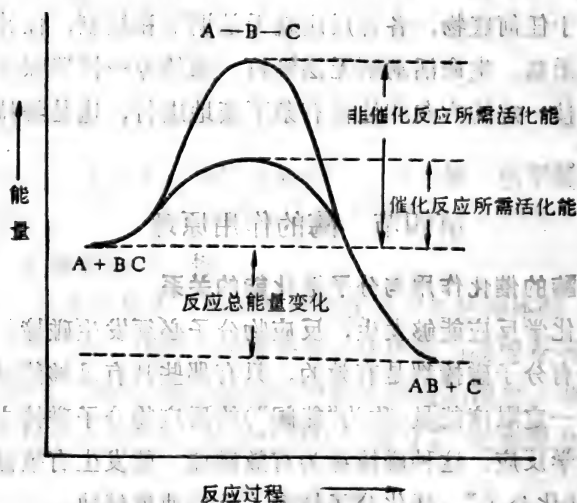


图 5-3 催化剂对活化能的影响

$A + BC$ 开始反应物

$A-B-C$ 过渡状态分子(络合物)

能。

二、中间产物学说

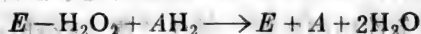
由上可知,酶的催化本质是降低反应的能阈,使所需的活化能减少,从而加速反应进行。要减少活化能,酶必须与底物互相

作用，这种相互作用减少活化能的理论，目前公认的是中间产物学说。其基本论点是酶(E)先与底物(S)结合生成不稳定的中间产物 ES (也称为中间络合物)。 ES 再分解成产物(P)和原来的酶。



这样把原来能阈较高的一步反应 $S \longrightarrow P$ ，变成能阈较低的两步反应，反应的结果是相同的，但由于反应的过程不同，能阈就大大地降低了。

中间产物学说的关键，在于中间产物是否确实存在，由于中间络合物很不稳定，易迅速分解成产物，因此不易把它从反应体系中分离出来。但是有不少实验表明中间产物确实存在。例如，过氧化物酶 E 可以催化过氧化氢(H_2O_2)与另一还原型底物 AH_2 进行反应。按中间产物学说，其反应过程如下：



此酶为铁卟啉蛋白，具有特征性吸收光谱，当进行光谱分析时它在645、583、548、498nm处有四条吸收带。当向酶液中加入过氧化氢后，光谱发生改变，只在561和530.5nm处显示两条吸收带，说明酶已与过氧化氢结合而生成了中间产物 $E-H_2O_2$ ，此时再加进 AH_2 (合适的还原型底物)时，酶的四条吸收光带重新出现，这说明中间产物已分解成产物，酶重新游离出来。

三、诱导契合假说

由上已知，酶促反应过程中酶与底物生成中间产物，但是酶和底物如何结合成中间产物？费歇尔提出所谓“锁钥”假说，认为酶活性中心的必需基团与底物分子在化学结构上具有紧密的互补关系，如同锁和钥匙的关系一样，因而能够专一性地结合形成 ES 复合物。酶与底物分子都有立体结构，酶活性中心与底物分子的空间结构必须吻合，如图 5-4 所示。

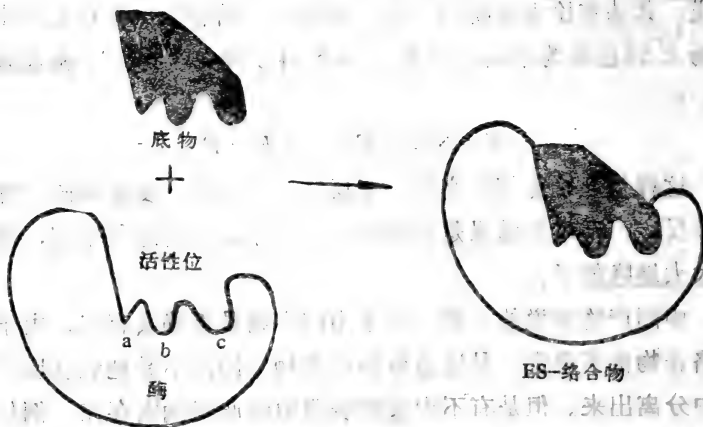


图 5-4 酶与底物锁钥结合示意图

此假说可以解释某些立体专一性酶的竞争性抑制作用，但不能解释酶的非竞争性抑制作用。科什兰德 (Koshland) 提出了“诱导契合”假说，认为酶分子的活性中心或酶分子的结构有一定的可变性，当底物与酶分子接近时可诱导酶分子的构象发生改变，使之有利于与底物的结合，如图 5-5 所示。

此假说的要点是，在酶促反应过程中，酶分子活性中心的构象发生了变化，通过旋光测定，特别是 X-射线衍射分析证明确实如此。

酶促反应包括酶与底物的结合和催化基团对反应的加速等两个过程，近年来对酶催化的高效率的研究，虽然取得了较大的进展。但由于酶的种类繁多，酶促反应总的效应又是由多种不同作用共同引起的，有些作用可能对某些酶有较大的意义，而对另一些酶则较小或没有，所以情况很复杂。这方面的研究成果在一些酶学专著中有所介绍。本书受篇幅所限不再介绍。

四、酶原激活

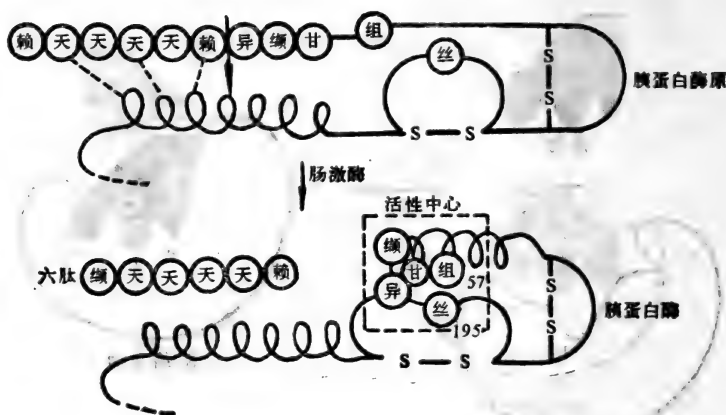


图 5-6 胰蛋白酶原的激活

酶抑制剂如抑肽酶可以治疗胰腺炎。可见，在组织细胞中，某些酶以酶原的形式存在，具有重要的生物学意义。

第五节 影响酶促反应的因素

一、酶浓度对酶促反应的影响

在底物足够，而又不受其他条件如温度、pH 等影响的情况下，则酶促反应速度(v)与酶浓度成正比(见图 5-7)。因此在这种情况下，通过测定酶促反应的速度，可以衡量酶的相对含量。即

$$v = k[E]$$

k 为反应速率常数

$[E]$ 为酶浓度

二、底物浓度对酶促反应的影响

在酶促反应体系中，当酶浓度 $[E]$ 、温度和 pH 等条件保持恒定时，反应速度与底物浓度 $[S]$ 的关系如图 5-8 所示。

一般在底物浓度 $[S]$ 较低时，随着 $[S]$ 增加，反应速度 v 成正比地增加，但当底物浓度较高时，反应曲线开始弯曲。当 $[S]$

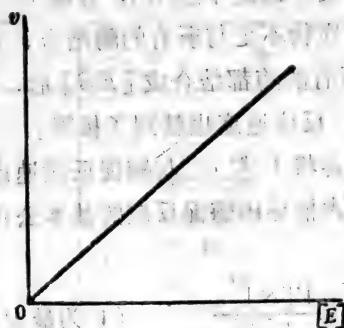


图 5-7 酶浓度与反应速度的关系

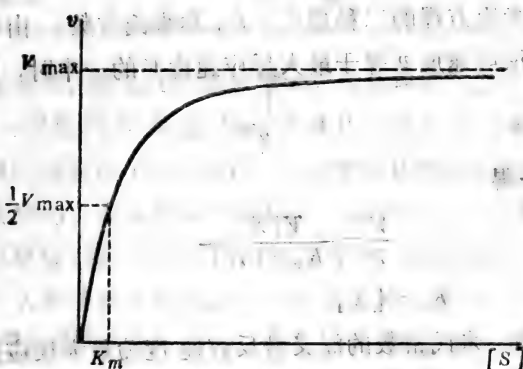


图 5-8 底物浓度对酶促反应速度的影响

升高至一定的浓度， v 不再升高，其所能达到最大的反应速度 (V_{\max})，不再因底物浓度增加而升高。这种关系，可用中间产物学说加以说明，其关系如下：



式中 k_1 、 k_2 、 k_3 分别代表各反应的速度常数。

根据质量作用定律， P 的生成速度决定于中间产物 $[ES]$ 的

浓度，即酶反应速度 v 决定于 $[ES]$ ，亦即 $v = k_3[ES]$ 。

当 $[S]$ 低时，底物不足与所有的酶结合，若 $[S]$ 增加， $[ES]$ 也随即增加。当所有的酶都结合成 $[ES]$ 后，即使 $[S]$ 增加， $[ES]$ 也不再增加，反应速度也就到了极限。

米契利斯和曼吞将上述 $[S]$ 与酶促反应速度关系进一步作定量分析，用数学公式推导出酶促反应的基本公式，称为米氏方程式。

$$v = \frac{V[S]}{K_m + [S]} \quad (V \text{ 为最大反应速度}) \quad (2)$$

或
$$K_m = [S] \left(\frac{V}{v} - 1 \right) \quad (3)$$

以上是米氏方程的二种形式， K_m 称米氏常数。由米氏方程式可知，当反应速度 v 等于最大反应速度 V 的一半时，即

$$v = \frac{V}{2},$$

代入方程(2)得

$$\frac{V}{2} = \frac{V[S]}{K_m + [S]} \quad (4)$$

化简得：
$$K_m = [S] \quad (5)$$

由此可知，米氏常数的涵义是反应速度为最大反应速度一半时的底物浓度。米氏常数的单位为浓度单位摩尔。不同酶促反应的 K_m 可相差很大。一般在 10^{-3} — 10^{-6} mol/L 之间。表 5-3 例举了一些酶的 K_m 值。

米氏常数是酶的特征性物理常数。一个酶在一定条件下，对某一底物有一定的 K_m 值，故通过测定 K_m 的数值，可鉴别酶。

在一定条件下 K_m 可表示酶和底物的亲和力。 K_m 大表示酶和底物亲和力弱， K_m 小，则表示酶和底物的亲和力强。

三、温度对酶促反应的影响

由于温度的升高，使活化分子数增多，所以在一定的温度范围

表 5-3 某些酶的米氏常数

酶	底 物	K_m (mol/L)
过氧化氢酶	H_2O_2	2.5×10^{-3}
β -半乳糖苷酶	乳 糖	4×10^{-3}
麦芽糖酶	麦 芽 糖	2.1×10^{-1}
谷氨酸脱氢酶	α -酮戊二酸	2×10^{-3}
己糖激酶	葡 萄 糖	1.5×10^{-4}
	果 糖	1.5×10^{-3}
琥珀酸脱氢酶	琥珀酸盐	5×10^{-7}
乳酸脱氢酶	丙 酮 酸	3.5×10^{-3}
尿 酶	尿 素	2.5×10^{-3}
α -淀粉酶	淀 粉	6×10^{-4}
蔗糖酶	蔗 糖	2.8×10^{-3}

内，温度升高，酶促反应速度增大，当升到某一温度时，反应速度最大，这一温度称为“最适温度”。再升高温度，由于酶蛋白的热变致使酶反应速度下降，这样随着温度的升高反应速度迅速下降，直至丧失活力。在溶液中，当温度升高到 30°C 时，其活性的丧失已经可以察觉，到 $50-60^{\circ}\text{C}$ 时更为显著，温度再高时活性一般丧失很快。人和动物体内多数酶的最适温度接近 37°C （见图 5-9）。

“最适温度”不是酶的特征常数，它与实验条件有关，如反应时间的长短、酶浓度以及 pH 等条件对最适温度都有影响。图 5-10 是时间对最适温度的影响。

低温也使酶的活性降低，但不破坏酶，当温度回升时，酶的催化活性又可随之恢复。酶对低温的稳定是生物制品、菌种以及精液、花粉低温保存的理论基础。而酶的热变性则是高温灭菌的根据。

四、pH 对酶促反应的影响

pH 对酶促反应速度的影响是复杂的，它不但影响酶的稳定性，而且还影响酶活性部位中重要基团的解离状态，酶-底物复合物的

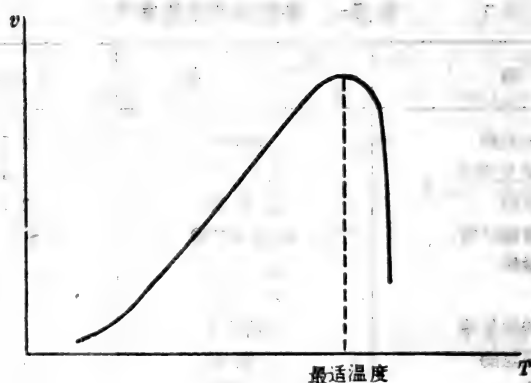


图 5-9 温度对酶促反应速度的影响

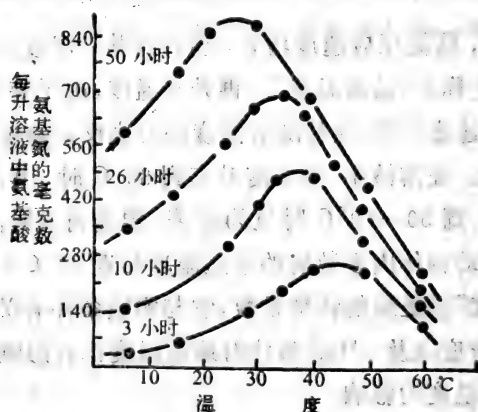


图 5-10 时间对于海鞘体内蛋白酶作用的最适温度的影响

解离状态以及底物的解离状态,从而影响酶的反应速度。

大多数酶的反应速度随着 pH 的变化往往呈钟罩形曲线,如图 5-11 所示。曲线的最高峰,即反应速度最大时的 pH 值即为最适 pH。酶的最适 pH 是上述各种影响共同起作用的结果。

各种酶的最适 pH 值各不相同,一般酶的最适 pH 在 4-8 之

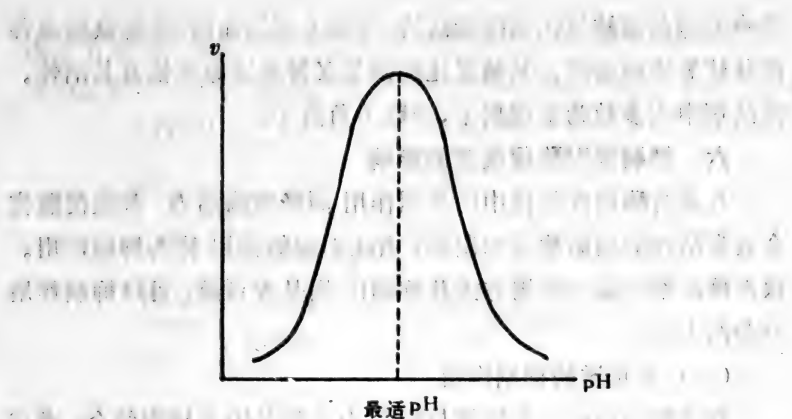


图 5-11 pH 对酶反应速度的影响

间,植物和微生物体内的酶,其最适 pH 多在 4.5—6.5,而动物体内大多数酶,其最适 pH 接近中性(一般为 6.5—8.0)。但亦有例外,如胃蛋白酶的最适 pH 为 1.5、肝中精氨酸酶最适 pH 为 9.8。

最适 pH 不是酶的特征常数,其数值受酶的纯度、底物的种类和浓度、缓冲液的种类和浓度等影响。因此,酶的最适 pH 只有在一定条件下才有意义。

pH 既然对酶促反应的影响很大,所以在体外做酶促反应实验时,必须在反应液中加入足量的适宜的缓冲剂,以维持其 pH 不致因为产物的生成而发生改变。

五、激活剂对酶促反应的影响

酶促反应是一类复杂的化学反应,有的化合物能对它起促进作用,凡能提高酶活力的物质即称为激活剂,这种作用则称为激活作用。有些激活剂是在酶制备过程中(如透析)失去的辅助因子,故这些酶在制备后需要加入某种离子或其它无机离子后活力才能提高。例如葡萄糖激酶需要 Mg^{2+} , 醛缩酶需要 Mn^{2+} , 唾液淀粉酶需要 Cl^{-} 。有些酶,以巯基为活性基团,它们在制备过程中,分

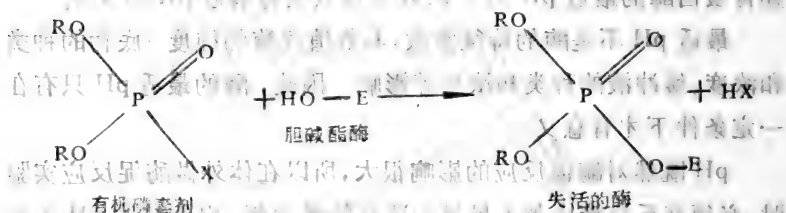
子中的巯基常被氧化而降低活性,当加入抗坏血酸、半胱氨酸或谷胱甘肽等还原剂时,其被氧化的巯基又得到还原而恢复其活性。激活剂中大多数为金属离子,少数为负离子。

六、抑制剂对酶促反应的影响

凡是与酶活性部位中的基团作用而降低酶活力,甚至使酶完全丧失活性的物质称为抑制剂,由此引起的作用称为抑制作用。根据抑制剂与酶的作用方式及抑制作用是否可逆,可将抑制作用分为两大类:

(一) 不可逆的抑制作用

有些抑制剂可以共价键与酶蛋白中的基团或辅酶结合,或与它们发生其他反应,从而使酶失活。不能用透析、超滤等物理方法除去抑制剂而恢复酶活性。例如常用的有机磷农药敌百虫、敌敌畏、1059等,它们能与胆碱酯酶活性中心丝氨酸上的—OH结合而使酶失活。

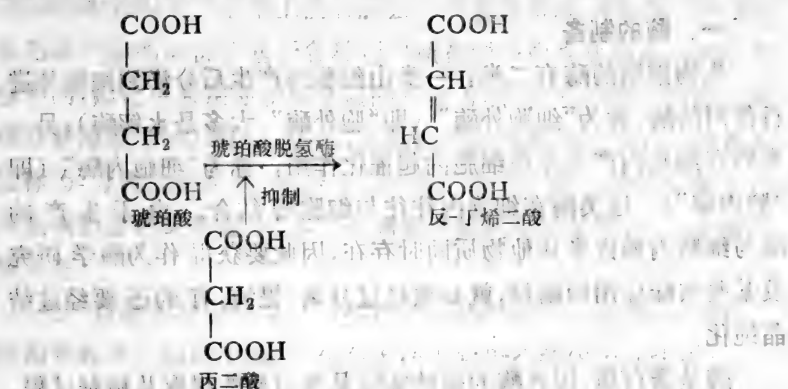


(二) 可逆的抑制作用

有些抑制剂与酶蛋白结合是可逆的,可用透析法除去抑制剂,恢复酶活性,可逆抑制剂与游离酶之间存在着平衡,根据抑制剂与底物的关系,可逆抑制作用又分为竞争性抑制作用和非竞争性作用。

1. 竞争性抑制作用 抑制剂同底物对酶分子竞相结合,抑制剂与酶结合形成无活性的二元复合物,妨碍了底物与酶的结合,因而使反应速度降低。这种作用称竞争性抑制作用。这种抑制可

通过增加底物浓度来解除。最典型的例子是丙二酸对琥珀酸脱氢酶的抑制,因为丙二酸与这个酶的正常底物琥珀酸结构上很相似,



如果增加琥珀酸的浓度,则可增加琥珀酸与酶结合的机会,可使丙二酸的抑制作用减弱,甚至消除。

磺胺是大家熟知的抗菌药,磺胺的结构与对氨基苯甲酸相似。对氨基苯甲酸是多种细菌合成二氢叶酸的原料。服用磺胺药物后,因磺胺与对氨基苯甲酸竞争,抑制了二氢叶酸合成酶。细菌由于缺乏二氢叶酸,不能进一步生成四氢叶酸,以致核酸的合成受障碍,影响细菌的生长繁殖。

竞争性抑制作用可能是由于底物与抑制剂竞争与酶分子的同一部位相结合,因而妨碍底物与酶结合,减少酶的作用机会。

2. 非竞争性抑制作用 酶和底物的结合不影响和抑制剂结合,就是说抑制剂可以和游离的酶结合,也可以和酶-底物复合物结合,分别形成二元和三元无活性复合物。发生非竞争性抑制作用的原因虽然也是由于抑制剂和酶进行可逆结合,但推测结合的位置与底物不同,因而这种抑制作用,不因底物浓度的增高而减弱。例如某些药物与酶分子中丝氨酸残基上的—OH基相结合,这种—OH虽不位于催化部位,但对于维持酶的空间构象是必需的,影响了它,也就抑制了酶的活性。

第六节 酶的制备和应用

一、酶的制备

生物细胞的酶有二类：一类由细胞内产生后分泌到细胞外进行作用的酶，称为“细胞外酶”（即“胞外酶”，大多是水解酶）；另一类酶在细胞内产生并在细胞内起催化作用，称为“细胞内酶”（即“胞内酶”），这类酶在细胞内往往与细胞器结合。由于生产的酶与细胞内外许多其他物质同时存在，因此要获得作为酶学研究与某些实际应用的制剂，就必须经过分离、提纯，有的还要经过结晶纯化。

酶是蛋白质，因此酶的提纯实际是蛋白质的提取及精制过程。在整个过程中要注意防止高温、过酸、过碱和剧烈的搅拌及重金属离子的混入，以免酶活力损失。具体操作介绍如下：

（一）抽提（分离）^①

酶是生物催化剂，在生物界普遍存在，目前工业上多采用微生物发酵来生产酶制剂。抽提就是用溶剂将酶分离出来，不同的酶采用不同的方法。对胞外酶，若为固体培养，则加水浸泡过滤即得，如麸皮浸出液即为含有淀粉酶的提取液；若为液体培养，则不需要经过抽提，只要将发酵液过滤，除去菌体后，其滤液即可供进一步提纯用。而提取细胞内酶就必须先收集菌体，接着用适当的方法将细胞结构破坏使酶释放出来，然后在低温下，用水或低盐缓冲液，从已破碎的细胞中将酶溶出。

（二）酶的纯化

酶的抽提液中含有大量杂质，纯化的目的就是除去杂质以提高酶的纯度及其活力。酶的纯化方法一般有以下几种：

1. 盐析 在酶的提取液中加入硫酸铵 $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ 等中性

^① 酶的抽提和纯化可不讲述，由学生自学。

盐,使酶从溶液中沉淀出来,从而可使酶与一部分杂质分离,同时达到浓缩的目的。以上所述为“一次盐析法”,经过这样处理后,酶制剂中的非酶蛋白基本上没有除去。若要制得较纯的酶,则必须采用进一步的盐析。基于各种蛋白质在同一中性盐溶液中的溶解度不同,因此可采用逐步添加硫酸铵的方法,使它们在不同浓度的硫酸铵溶液中,先后沉淀析出,从而达到分离提纯的目的,这种方法称为“分段盐析法”。盐析过程中应注意 pH 值的控制,使之在不影响稳定性的前提下,尽可能调节至接近它的等电点,以使酶沉淀完全。

2. 有机溶剂沉淀法 一些能与水相溶的有机溶剂(丙酮、乙醇和甲醇等),均能使酶沉淀,在生产上常用乙醇作为沉淀剂。

一般有机溶剂都是蛋白质的变性剂,当溶剂浓度过高时,酶变性失活比较严重,在纯化过程中,溶剂应少量地分批加入,并不断搅拌,防止局部过浓,当酶沉淀后要迅速分离,以减少接触时间,防止失活。同时整个操作过程都应严格控制在低温进行,此外对酶液 pH 值控制与硫酸铵盐析法相同。若制备较纯的酶制剂,可采用有机溶剂分段沉淀法,操作与分段盐析法相似。此法分辨能力比盐析法高。

3. 层析法 层析法是酶提纯的最有效方法之一,应用较广,有吸附层析,离子交换层析,分子筛过滤层析等方法。吸附层析法是利用吸附剂对不同蛋白质吸附能力的不同,而将酶与杂蛋白分离。常用的吸附剂有氧化铝、活性白土、磷酸钙凝胶、羟基磷灰石等。操作时先将吸附剂装入柱内,将酶提取液上柱,使所需的酶被吸附,而杂蛋白随溶液流出,然后再用适当的溶剂将酶洗脱出来。

(三) 酶的结晶

为了研究需要,在酶的提纯过程中,当酶已经达到一定纯度时,即可进行结晶试验。但酶的结晶,至今尚未总结出普遍规律,通常是在硫酸铵的溶液中进行的,重要的是,必须注意控制温度和

pH,特别在加入硫酸铵时需要逐渐提高盐的浓度,不要太快,只有这样,才能获得良好的效果。

二、酶的活力测定

酶的定性定量分析所根据的原理和一般定性分析不同,直到目前为止,还没有专一的试剂可直接检定酶。而是根据它能专一地催化某一种化学反应的特性,例如,把唾液加到淀粉溶液中,能使淀粉变成麦芽糖,我们就可断定唾液中含有淀粉酶。因为酶不易制成纯品,所以酶制剂中酶的含量都用它催化某一专一反应的能力来表示,即用酶的活力(酶的活性)来表示。

酶活力的大小可用在一定条件下,它所催化的某一化学反应的反应速度来表示,酶促反应速度愈大,酶的活力就愈强;反之,反应速度愈小,酶的活力就愈弱,所以测定酶的活力就是测定酶促反应速度。酶促反应速度可用单位时间内底物的消耗量或单位时间内产物的生成量来表示(其单位是:浓度/单位时间)。但在实际测定中一般以测定产物在单位时间的增加来表示,因为在酶促反应中,底物一般都是过量的,少量的底物的减少不易测准。而产物则是由无到有,变化明显,测定较为灵敏准确,并可制作出酶反应产物浓度与时间关系的曲线,如图 5-12 所示。

从图 5-12 可知,反应速度只在最初一段时间内保持恒定,随

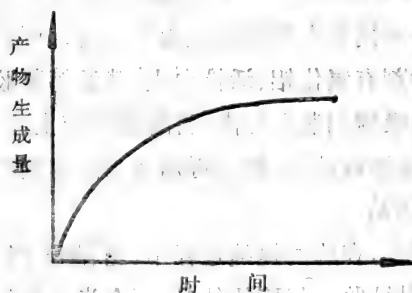


图 5-12 酶反应速度曲线

着反应时间的延长,酶促反应速度逐渐下降。这主要是因为随着反应的进行,底物浓度降低,产物浓度增加,从而加速了逆反应的进行。另外产物对酶的抑制作用及由于pH值和温度等因素的影响使酶逐渐失活。因此,研究酶促反应以酶促反应的初速度为准。

关于酶的活力单位,各种酶可有不同的表示方法,同一种酶也可以有不同的表示方法,这是因为人为的规定不同之故。例如,血清中碱性磷酸酶的活性单位,按 Bodansky 的规定为:在37°C及pH 8.6的条件下,100 ml血清能在1小时内自 β -甘油磷酸钠放出1 mg 无机磷酸的酶量,称为一个波氏单位。脲酶的活性单位则规定为能在37°C及pH 7.4的条件下,5分钟内水解尿素生成1 mg 氨气的活性等。1961年国际酶学会议规定,在酶作用的最适条件下(最适pH,最适底物浓度),30°C时,1分钟内催化1.0 μmol (微摩尔)底物转化为产物的酶量称为1个酶单位(U)。这虽然是一个统一的标准,但使用起来不如习惯法方便,因此这个建议未被普遍采纳。由此可见,在测定酶的活性时,必须严格规定条件和方法。使用某单位,就须严格按该单位规定的条件进行。

酶的比活力是指在固定条件下,每mg酶蛋白所具有的酶活力称比活力。

$$\text{比活力} = \text{酶活力} / \text{mg 酶蛋白}$$

这是酶学研究和生产中经常要遇到的一个数据。

对液体状态酶活力常以单位/ml(酶液)表示。

三、酶的应用

前面已述及我们的祖先早在公元以前就凭经验,利用酶制造食物、利用酶来医治疾病。近代利用酶作为增加生产和增进健康的手段就更加广泛,在工、农、医上日益发挥它的巨大作用。

例如淀粉酶用于纺织品的退浆,可节约大量的碱,并提高棉布质量。蛋白酶用于皮革工业的脱毛和软化,既节省了时间,又改善

了劳动条件。此外蛋白酶还可用于生丝和底片脱胶、肉类嫩化、酒类澄清或加入洗涤剂中以洗涤血渍和蛋白质污物等。脂肪酶用于食品增香、羊毛的脱脂。葡萄糖异构酶用来制造果糖浆,葡萄糖氧化酶可以用来除去罐头中残余的氧等……。

除了在工业上的应用外,酶还应用于医学的诊断和治疗。正常人体液中酶活性比较恒定,但在某些病理情况下,由于某些组织的损伤,或细胞通透性增加,细胞内的某些酶可大量释放到体液中,使体液中的某些酶活性可发生明显的改变。因此测定血或尿中的某些酶活性,对于某些疾病的诊断有莫大帮助。如患急性胰腺炎时,血清和尿中淀粉酶活性升高;患肝炎时血清中转氨酶活性升高;患某些癌症时,血清乳酸脱氢酶、酸性磷酸酯酶等的活性有所升高。

有一种酶称透明质酸酶,医学上常用作播散剂,它能够通过水解结缔组织的杂多糖——透明质酸,从而帮助机体吸收注射的药物和液体。纤溶酶和链激酶,能促使结成凝块的血液液化,消除血凝块,溶解纤维状物质,并且能够消除因感染或创伤而引起的集脓。胰蛋白酶能水解肽键,作用于凝固的血液和死亡组织,以液化血肿,如挫伤或眼睛周围的黑斑等……。酶和辅酶作为药用以治疗疾病近来已受到重视,种类不断增多,治疗范围亦在不断扩大着。

习 题

1. 什么是酶,酶有何特点?
2. 酶分为几大类?请写出各大类的反应通式和功能。
3. 简述酶的习惯命名法的命名原则。
4. 何谓全酶?酶蛋白和辅酶各有何功能?
5. 何谓酶的特异性,酶的特异性有何生物学意义?
6. 什么是酶的活性中心?活性中心分为哪两个部位?各有何功能?

7. 何谓同工酶、多酶复合体?
8. 什么是能阈、活化分子和活化能?
9. 增加活化分子数的途径有哪些?
10. 酶的催化本质是什么?
11. 何谓酶原和酶原激活?酶原有何生物学意义?
12. 什么是米氏常数,米氏常数有什么意义?
13. 高温灭菌的根据和生物制品、菌种等低温保存的理论基础是什么?
14. 什么是酶反应的最适温度和最适 pH?
15. 何谓酶的抑制剂,抑制有哪些类型?

第六章 维生素和辅酶

维生素又称维他命,来源于英文“vitamine”(后改为“vitamin”)一词。现在通常把维持机体生长和代谢所必需的一类低分子有机化合物称为维生素。

在机体内,维生素不是构成组织细胞的基本成分,也不能作为能量的来源,它在机体内之所以重要,是因为大多数维生素作为各种辅酶的组成成分,在代谢调节过程中起着重要作用。有些维生素本身即为辅酶。当机体缺乏某种维生素时,将导致缺乏相应的辅酶,进而影响许多酶的催化功能。其结果,使物质代谢发生障碍。

机体对维生素的需要量是很少的,每天仅以 mg 或 μg 计。但由于动物和人不能合成或合成量不足,因而大多数维生素必须由食物供给。各种维生素具有不同的功能,机体缺乏维生素将引起代谢障碍,并发生各种疾病。这类疾病统称为维生素缺乏症。食物品种多样化,合理的贮存和科学的烹调方法,是人类避免维生素缺乏症的有效措施。

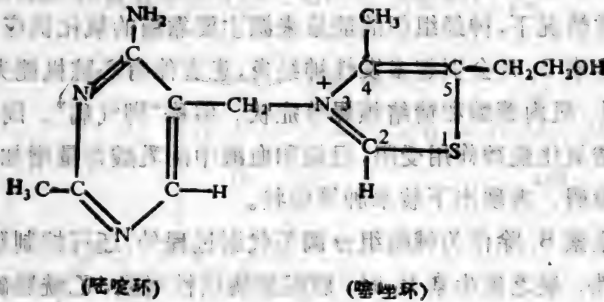
维生素的种类较多,功能各异。从化学结构上看,各种维生素之间的差异也很大,因此,无法按照结构或功能分类。一般按其溶解性分为两大类,即水溶性维生素和脂溶性维生素。水溶性维生素包括维生素 B_1 、维生素 B_2 、维生素 PP、维生素 B_6 、泛酸、生物素、叶酸、维生素 B_{12} 、维生素 C 等。脂溶性维生素包括维生素 A、D、K、E、硫辛酸等。

第一节 水溶性维生素与辅酶

一、维生素 B_1 与焦磷酸硫胺素

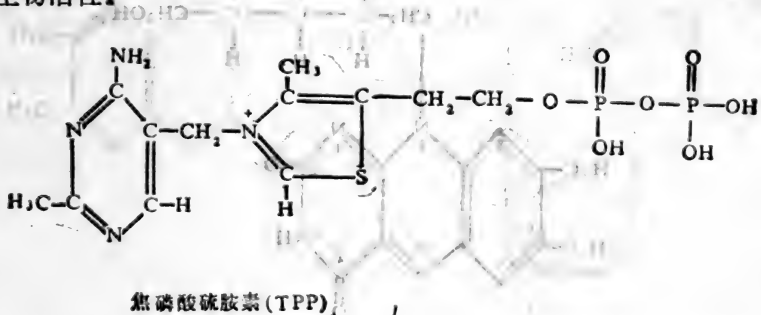
维生素 B₁ 又称硫胺素, 是最早发现的一种维生素。1897 年作为抗脚气病因子而被发现, 1935 年确定其分子结构, 并且能够人工合成。

维生素 B₁ 分子中含有嘧啶环和噻唑环, 其结构如下:



维生素 B₁ (硫胺素)

维生素 B₁ 在水中的溶解度较大, 在酸性溶液中较稳定, 在中性或碱性溶液中则易被氧化破坏。因此, 烹调方法对食品中维生素 B₁ 的保存有很大影响。加碱煮沸食物时, 维生素 B₁ 会遭到破坏。临床上使用的维生素 B₁ 是人工合成的硫胺素的盐酸盐, 易溶于水。维生素 B₁ 与焦磷酸结合成焦磷酸硫胺素 (TPP) 后才具有生物活性。



TPP 的主要生理功能是作为 α -酮酸氧化脱氢酶系中的辅酶而参与糖代谢。在代谢反应中起到传递酰基和氧化脱羧的作用。TPP 作为辅酶参加各种代谢反应的作用部位通常是在噻唑环上的第二位碳原子上。

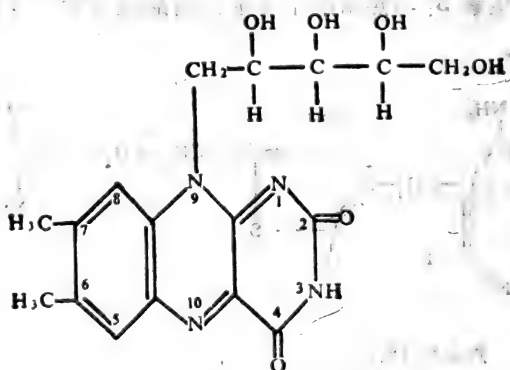
当机体缺乏维生素 B_1 时,体内 TPP 含量不足,糖代谢发生障碍。正常情况下,神经组织的能量来源主要靠糖的氧化供应,所以缺乏维生素 B_1 时会引起多发性神经炎,患者伴有心脏机能失调,四肢麻木,肌肉萎缩和情绪烦躁等症状。俗称“脚气病”。同时,由于丙酮酸氧化脱羧作用受阻,组织和血液中的乳酸含量增加,发生水代谢障碍,表现出下肢水肿等症状。

维生素 B_1 除作为辅酶组分调节代谢过程外,还可抑制胆碱酯酶的活性。缺乏维生素 B_1 时,胆碱酯酶活性增强,乙酰胆碱大量水解,神经系统的传递功能因此受到影响,造成胃肠蠕动缓慢,消化液分泌减少,食欲不振,消化不良等症状。

维生素 B_1 主要存在于种子外皮及胚芽中,因此,谷物加工过细或米类过分洗涤都会使大量维生素 B_1 丢失。

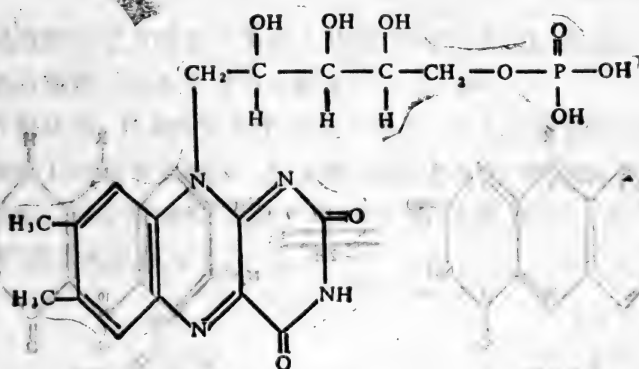
二、维生素 B_2 与黄素辅酶

维生素 B_2 又称核黄素,其分子是核糖醇与 6,7-二甲基异咯嗪的缩合物。其结构如下:

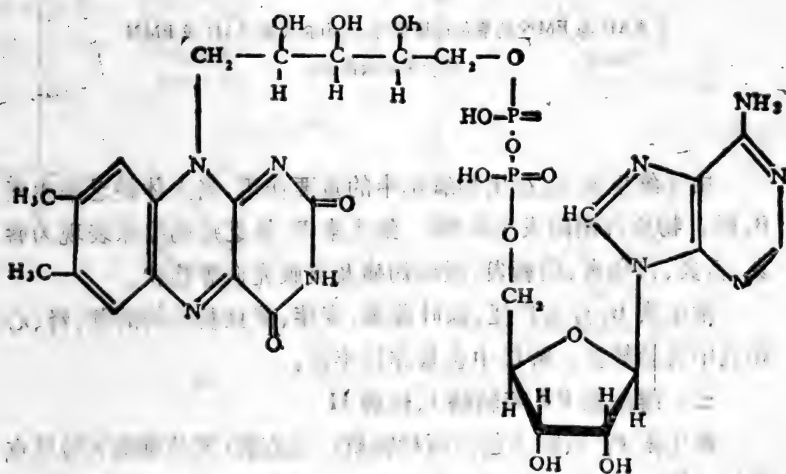


维生素 B₂ 为桔黄色晶体，微溶于水，极易溶于碱性溶液。在酸性溶液中稳定，在碱性溶液中易受光照射而被破坏。水溶液呈黄绿色荧光，可作为定量分析的依据。

在生物体内，维生素 B₂ 与 ATP 作用转化为黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)和黄素单核苷酸(FMN)。其结构如下。

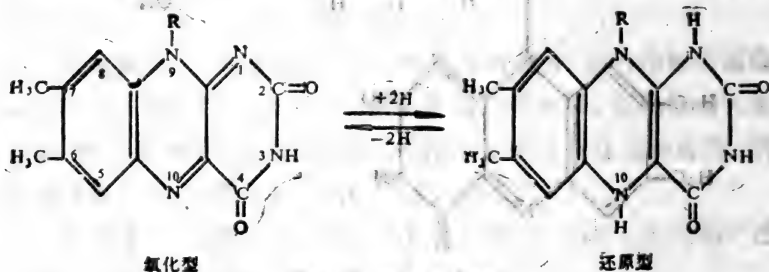


黄素单核苷酸(FMN)



黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)

FAD 和 FMN 作为黄素蛋白（生物氧化体系中的重要酶类）的辅基，在体内生物氧化过程中起着递氢作用。其递氢功能基团为 FAD 或 FMN 分子中异咯嗪环上的第 1 及第 10 位氮原子。这两位氮原子以其轭双键相连接，具有可逆的氧化还原特性，能接受氢被还原为还原型黄素辅酶，后者又很容易再脱氢成为氧化型黄素辅酶。



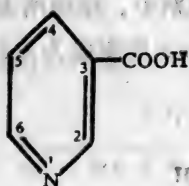
FAD 与 FMN 的氧化还原反应。式中 R 代表 FAD 或 FMN 分子中其余部分。

由于维生素 B₂ 在生物氧化中的重要作用，当人体缺乏维生素 B₂ 时，物质代谢即发生障碍。维生素 B₂ 缺乏症的临床表现为唇炎、舌炎、口角炎、阴囊炎、眼部灼痛及巩膜充血等症状。

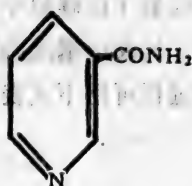
维生素 B₂ 分布广泛，绿叶蔬菜、麦芽、黄豆及动物的肝、肾、心和乳中含量较多。酵母中含量亦很丰富。

三、维生素 PP 与辅酶 I、辅酶 II

维生素 PP 实际上包括两种物质：尼克酸（又称烟酸）与尼克酰胺（又称烟酰胺），两者都是吡啶的衍生物，其结构如下，



尼克酸(烟酸)



尼克酰胺(烟酰胺)

尼克酸与尼克酰胺都为无色晶体,两者对光、热、酸、碱及在空气中都较稳定,是维生素中性质最稳定的一种。

在机体内,尼克酸可转变为尼克酰胺,后者是脱氢酶的辅酶——辅酶 I(烟酰胺腺嘌呤二核苷酸,简称 NAD^+)和辅酶 II(烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸,简称 NADP^+)的组成成分。 NAD^+ 与 NADP^+ 的结构见图 6-1。

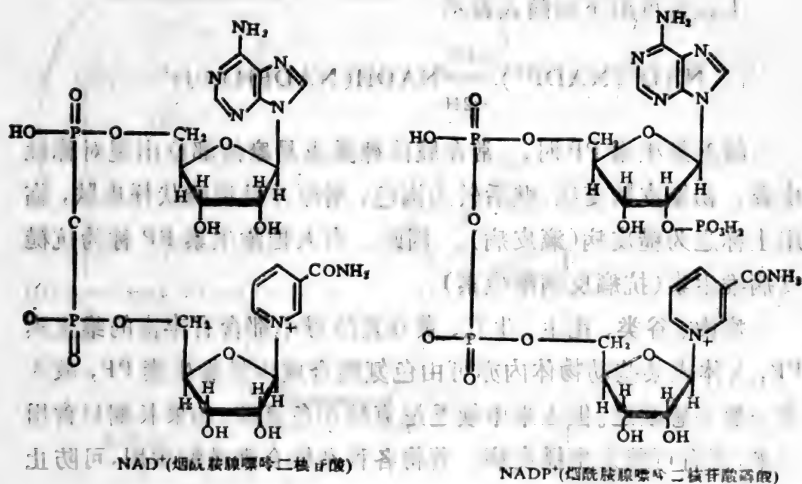
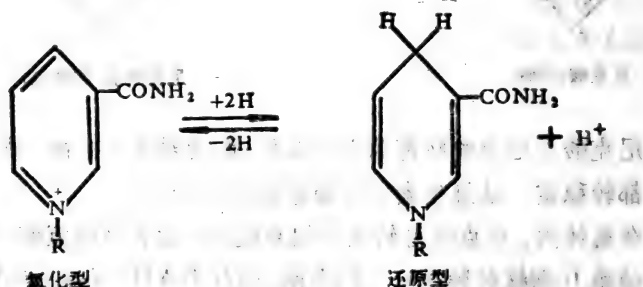


图 6-1 NAD^+ 和 NADP^+ 的结构

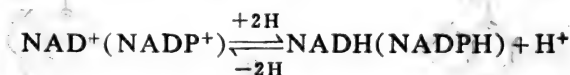
NAD^+ 和 NADP^+ 是多种脱氢酶的辅酶,起到递氢作用。在脱氢反应中,底物的一个质子转移给 NAD^+ (或 NADP^+) 的烟酰胺

胺环的第4位碳原子，另外一个质子留在溶剂中。底物所失的两个电子转移给烟酰胺环上的氮原子，使其由+5价变成为+3价。整个过程可用下式表示：



NAD⁺或NADP⁺的氧化还原反应，R代表NAD⁺或NADP⁺分子的其余部分。

上式也可用下列简式表示

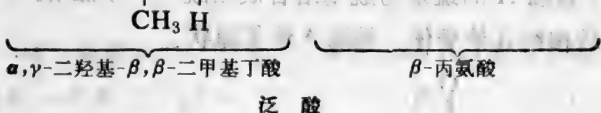


缺乏维生素PP时，常在肢体裸露或易摩擦部位出现对称性皮炎。初期皮肤变红，继后转为褐色，增厚并呈现磷状样皮肤，临床上称之为糙皮病(癞皮病)。因此，有人把维生素PP称为抗糙皮病维生素(抗癞皮病维生素)。

瘦肉、谷类、花生、牛乳、黄豆及酵母中都含有丰富的维生素PP，人体或某些动物体内亦可由色氨酸合成少量维生素PP，故人类一般不感缺乏。但玉米中缺乏尼克酸和色氨酸，如果长期只食用玉米，便有可能发生糙皮病。若将各种杂粮合理搭配食用，可防止糙皮病的发生。

四、泛酸和辅酶A

泛酸又称遍多酸，是由 α ， γ -二羟基- β ， β -二甲基丁酸与 β -丙氨酸通过肽键结合而成的酸性物质，其结构如下：



在生物组织中，泛酸作为辅酶 A (CoA 或 CoA—SH) 的一个组分而发挥其生理效应。辅酶 A 可视为核苷酸的衍生物，其结构见图 6-2。

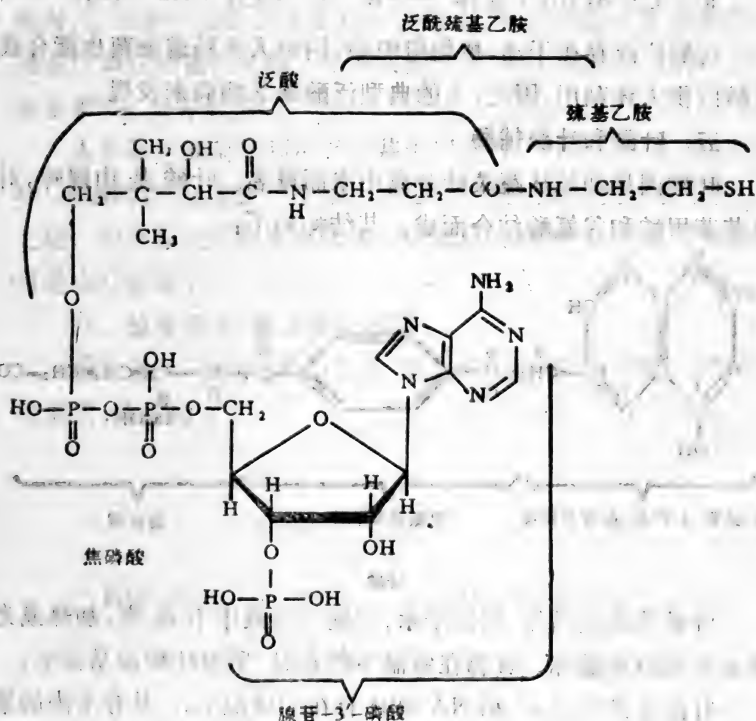
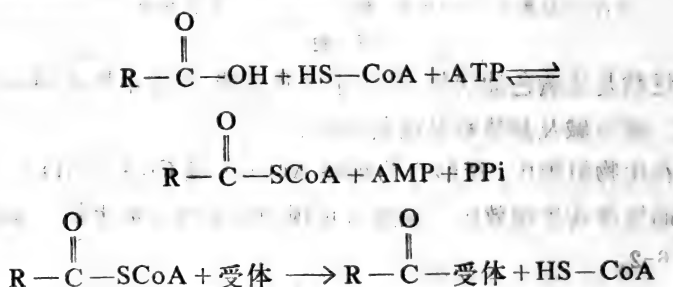


图 6-2 辅酶 A(简称为 CoA-SH)

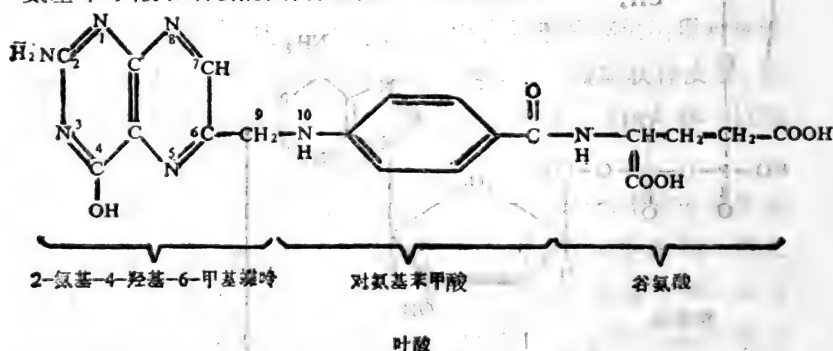
辅酶 A 是体内酰基转移酶的辅酶，在代谢过程中作为酰基载体。辅酶 A 的巯基乙胺部分的巯基是酰基的连接部位。在 ATP 存在情况下，辅酶 A 的巯基与酰基结合成脂酰 CoA，脂酰 CoA 又可将酰基转移给其他受体，辅酶 A 恢复原状。



泛酸广泛存在于动、植物组织中，同时人类肠道细菌也能合成泛酸以供人体利用，因此，人的典型泛酸缺乏病尚未发现。

五、叶酸和叶酸辅酶

叶酸因最初是从蔬菜叶分离出来而得名。叶酸是由蝶呤，对氨基苯甲酸和谷氨酸结合而成。其结构如下：



叶酸为黄色晶体，微溶于水，在酸性溶液中不稳定，加热或光照射时易分解破坏。食物在室温下贮存时，所含叶酸极易损失。

叶酸在维生素 C 和 NADPH 存在的情况下，其分子内的第 5-6、7-8 双键处可加上四个氢原子，成为四氢叶酸 (FH_4)。

FH_4 是体内一碳单位转移酶系统中的辅酶, 可参与多种反应。由 FH_4 传递的一碳单位有亚胺甲基 ($-\text{CH}=\text{NH}$); 甲酰基

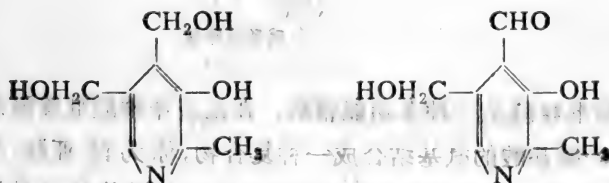
($-\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}-\text{H}$); 羟甲基 ($-\text{CH}_2\text{OH}$); 甲基 ($-\text{CH}_3$) 及亚甲基 ($>\text{CH}_2$) 等。这些一碳单位与 FH_4 的 N^5 或 N^{10} 位原子, 或同时与 N^5 、 N^{10} 位原子共价结合, 形成各种 FH_4 衍生物。 FH_4 衍生物作为嘌呤、嘧啶和某些氨基酸生物合成中一碳单位的载体, 在核酸的生物合成中起着重要作用, 对蛋白质的代谢也是不可缺少的。

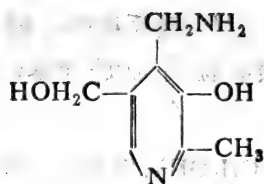
由于叶酸在核酸的合成代谢中起着重要作用, 所以当缺乏叶酸时, 红细胞中核酸的生成发生障碍, 红细胞的发育和成熟受阻, 造成巨幼红细胞性贫血。用叶酸治疗巨幼红细胞贫血病时, 常与维生素 B_{12} 合并使用。

人体肠道细菌能利用对氨基苯甲酸合成叶酸, 而且植物的绿叶、动物的肝、肾等组织中都大量存在叶酸, 故人类一般不发生缺乏症。但当吸收不良或长期使用抑制肠道细菌生长的药物时, 则可能造成叶酸缺乏。

六、维生素 B_6 和磷酸吡哆醛

维生素 B_6 是吡啶的衍生物, 它包括吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺三种形式, 其结构如下:

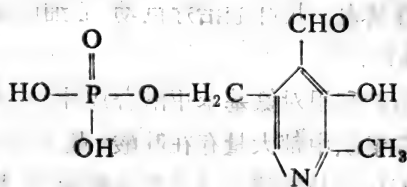




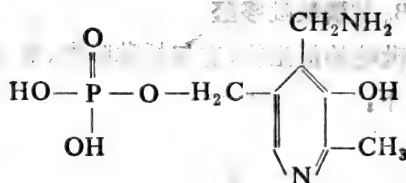
吡哆胺

维生素 B₆ 为无色晶体，易溶于水及酒精，对光和碱均敏感。吡哆醇耐热，吡哆醛和吡哆胺不耐热。

在动物组织中，吡哆醇、吡哆醛和吡哆胺可经磷酸化作用转变为相应的磷酸酯，它们之间也可相互转变。参加代谢作用的主要是磷酸吡哆醛和磷酸吡哆胺。

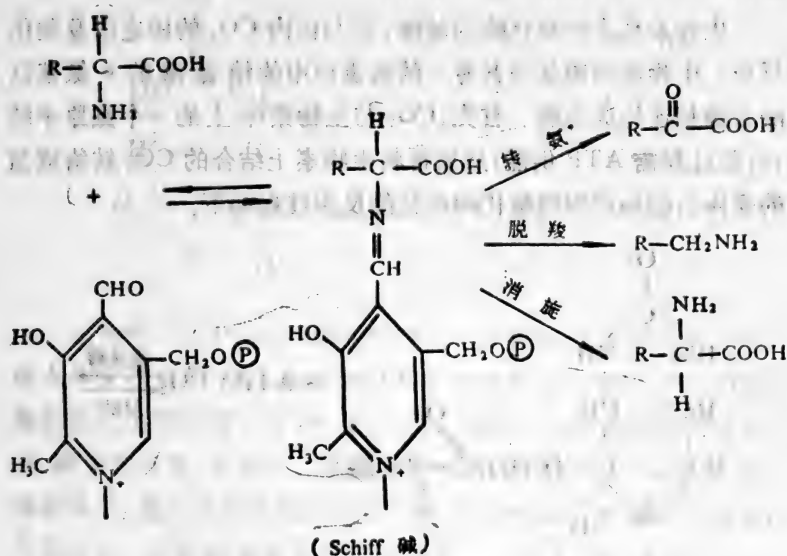


磷酸吡哆醛



磷酸吡哆胺

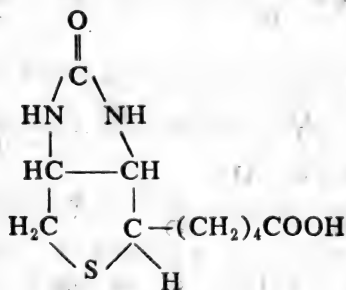
磷酸吡哆醛是一种多功能辅酶。在反应中磷酸吡哆醛的醛基与底物 α-氨基酸的氨基结合成一种复合物，称为醛亚胺，又称希夫(Schiff)碱。醛亚胺再根据不同酶蛋白的特性使氨基酸发生转氨、脱羧或消旋等作用。



因为许多食物都富含维生素 B₆，同时肠道细菌也可以合成维生素 B₆ 被人体吸收利用，所以人类很少发生维生素 B₆ 缺乏病。

七、生物素和羧化辅酶

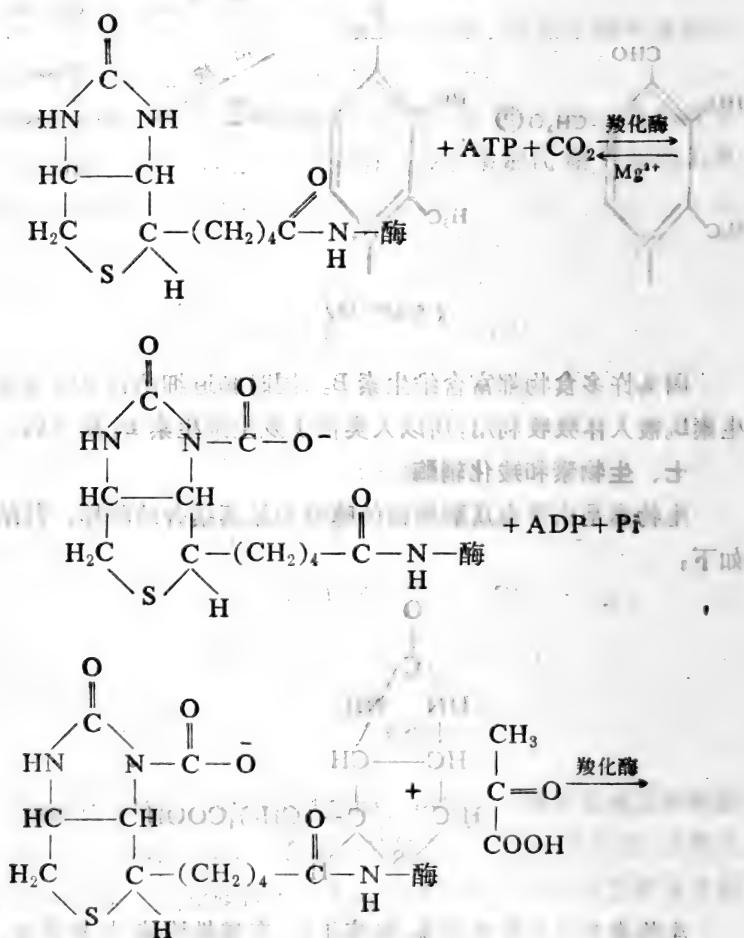
生物素是由带有戊酸侧链的噻吩与尿素结合的骈环，其结构如下，

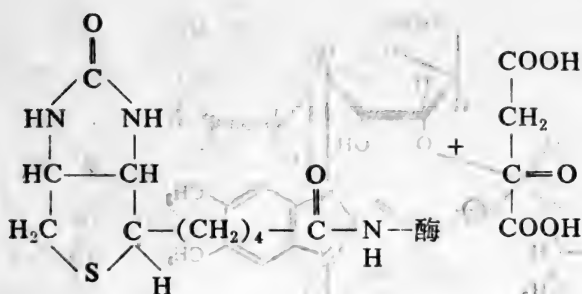


生物素为无色针状晶体，微溶于水，在酸性溶液中较稳定，高

温和氧化剂可使其丧失生物学活性。

生物素是多种羧化酶的辅酶，参与体内 CO_2 的固定以及羧化反应。生物素的羧基与其专一的酶蛋白中的赖氨酸的 ϵ -氨基以酰胺键相连构成全酶。首先， CO_2 与生物素环上的一个氮原子结合，此过程需 ATP 供能，然后再将生物素上结合的 CO_2 转给适当的受体。例如丙酮酸羧化酶催化的反应过程如下。





生物素广泛分布于动植物组织中,肠道细菌亦能合成生物素被人体吸收利用,所以人类很少发生生物素缺乏病。长期口服抗菌素或吃生鸡蛋清过多,可诱发生物素缺乏病,其主要症状是肌痛、鳞屑性皮炎、贫血等。这是因为鸡蛋清中含有一种碱性的抗生物素蛋白,能与生物素结合而使生物素不能被肠壁吸收。鸡蛋清煮熟以后,这种抗生物素蛋白被破坏,不能再和生物素结合。

八、维生素 B₁₂ 和 B₁₂ 辅酶

维生素 B₁₂ 是水溶性维生素中发现最晚的一种。它的发现是多年研究恶性贫血病的结果。1926 年有人发现食用动物的肝脏可治疗恶性贫血病。因为该病不能在实验动物身上诱导产生,只能用人类的恶性贫血病患者进行试验,所以研究的进展很慢。直到 1948 年才分离出维生素 B₁₂ 的结晶,1957 年才确定其分子结构。

维生素 B₁₂ 分子中含有金属元素钴,故又称为钴胺素。维生素 B₁₂ 的结构比较复杂,是由一个拟核苷酸与咕啉环组成,其结构见图 6-3。

维生素 B₁₂ 为深红色晶体,溶于水,乙醇和丙酮,不溶于氯仿。维生素 B₁₂ 在 pH 4.5-5.0 的水溶液中稳定,强酸强碱下不易分解,日光、氧化剂及还原剂存在时,易被破坏。

维生素 B₁₂ 被机体吸收后,与钴原子相连的氰被脱氧腺苷或

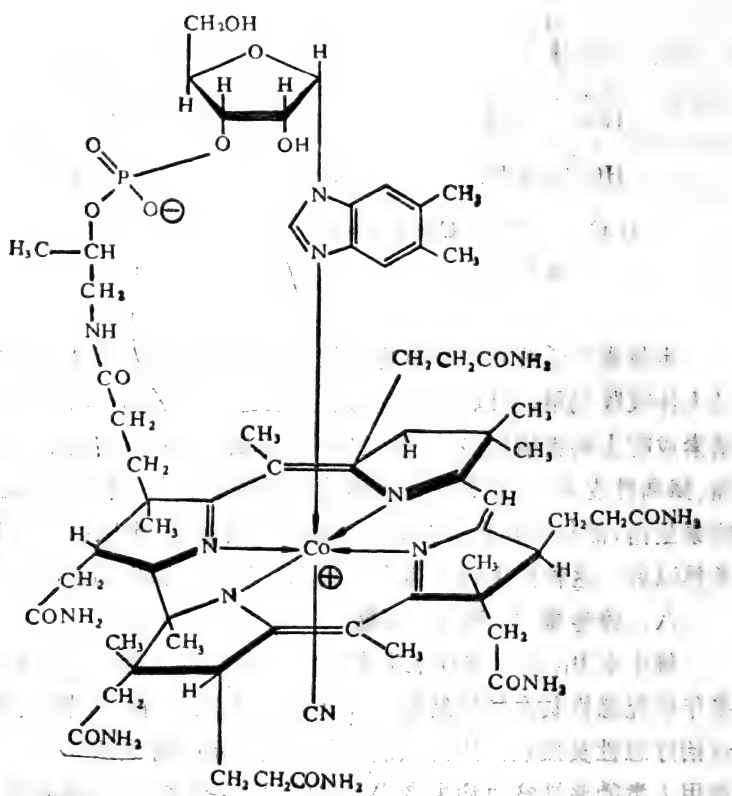


图 6-3 钴胺素

甲基所代替,转变为5'-脱氧腺苷钴胺素和甲基钴胺素。后两者都是维生素 B_{12} 的辅酶形式。其中,5'-脱氧腺苷钴胺素是维生素 B_{12} 在体内的主要存在方式,通常又将之称为 B_{12} 辅酶,其结构见图 6-4。

B_{12} 辅酶作为几种变位酶的辅酶,主要涉及分子内基团重排反应。这类反应包括一个H原子在底物分子上作 $C_2 \rightarrow C_1$ 位的转移,伴随其他基团(如—OH、—NH₂、—烷基、—COSCoA等)作相反方

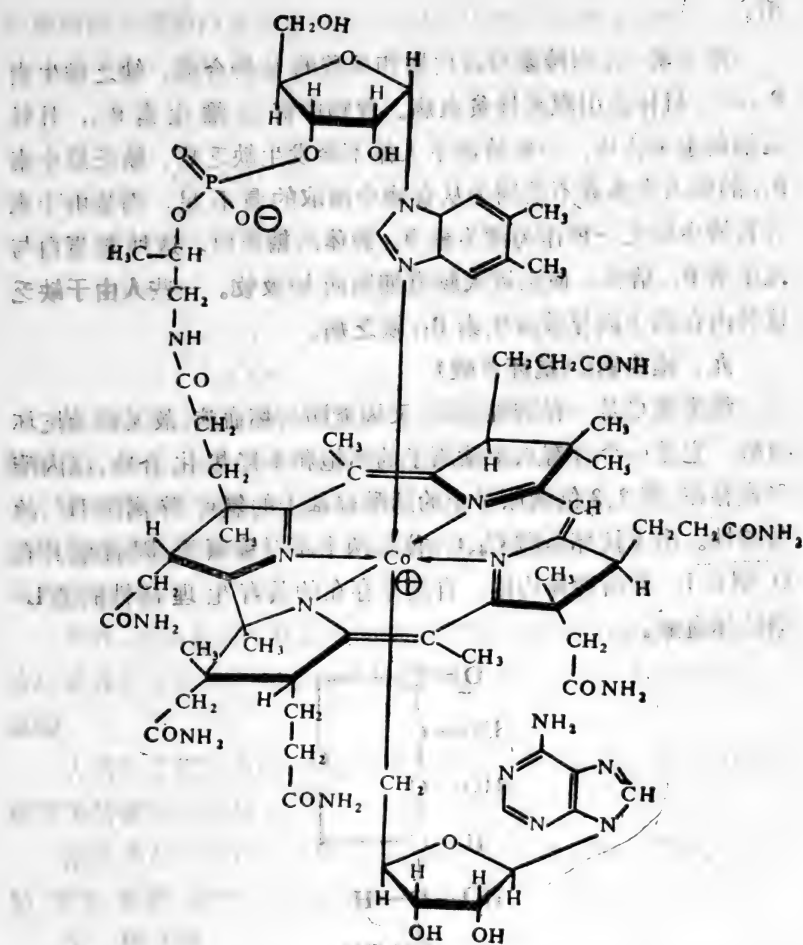


图 6-4 B₁₂辅酶

向的 C₁→C₂ 位的转移。

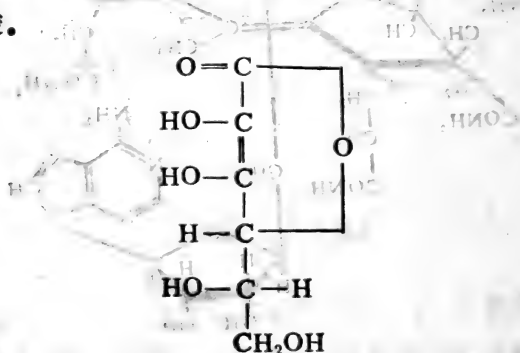
甲基钴胺素作为甲基载体,参与某些氨基酸和 胸腺嘧啶的生物合成。在传递甲基过程中,甲基钴胺素通常与叶酸辅酶协同作

用。

维生素 B_{12} 间接参与蛋白质和核酸的生物合成。缺乏维生素 B_{12} 时，机体会出现恶性贫血病。食物中富含维生素 B_{12} ，且肠道细菌也可合成，一般情况下人体不会发生缺乏病。缺乏维生素 B_{12} 的病人大多数不是因为从食物中摄取的量不足，而是由于患者胃液中缺乏一种作为维生素 B_{12} 载体的糖蛋白。这种糖蛋白与维生素 B_{12} 结合，使之进入肠道细胞而被吸收。一些人由于缺乏这种内在因子而导致维生素 B_{12} 缺乏病。

九、维生素C(抗坏血酸)

维生素C是一种酸性物质，又因能防治坏血病，故又称为抗坏血酸。它是一个含有六个碳原子的不饱和多羟基化合物，以内酯形式存在，其2,3位碳原子上的烯醇羟基上的氢可游离出 H^+ ，故具酸性。由于抗坏血酸 C_4 、 C_5 位是两个不对称原子，因此它具有D-型和L-型两种异构体。自然界存在的具有生理活性的是L-型抗坏血酸。

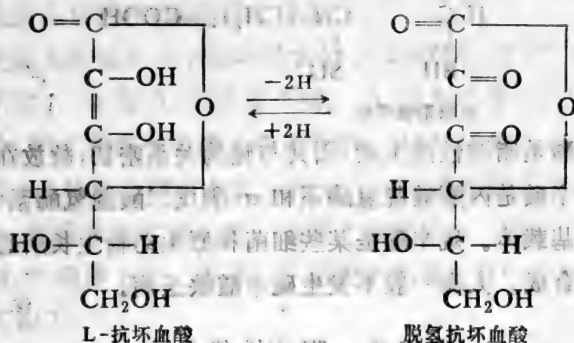


维生素C(L-抗坏血酸)

抗坏血酸为无色晶体，溶于水及乙醇，不耐热，易被光及空气所氧化。对金属离子较敏感。在酸性溶液中较稳定。

抗坏血酸是一种强的还原剂，可被氧化成为脱氢型抗坏血酸。脱氢型抗坏血酸又可被各种还原剂(如还原型谷胱甘肽)还原。抗

坏血酸的生理功能就是通过这一氧化-还原体系而实现的。



抗坏血酸还与细胞内代谢物的羟化作用有关，是某些羟化酶的辅酶。例如，抗坏血酸是脯氨酸羟化酶的辅酶。

已知许多含巯基的酶在体内发挥生理功能时需要自由-SH。抗坏血酸能保护酶分子中的-SH，使之不被氧化。因此抗坏血酸具有抗毒作用。

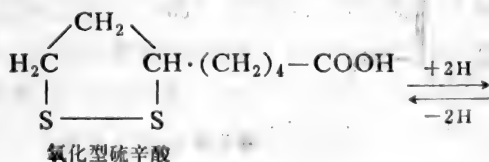
另外，抗坏血酸与红细胞的氧化-还原过程也有密切关系。在治疗营养性贫血和巨红细胞性贫血等疾病时，都应注意补充抗坏血酸。

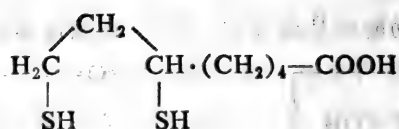
人类缺乏抗坏血酸时，会引起以水肿，皮下出血，贫血和牙龈病变为特征的坏血病。

维生素C广泛存在于绿叶、蔬菜、及新鲜水果中。其中尤以柑桔、蕃茄、辣椒、鲜枣中含量最为丰富。

十、硫辛酸

硫辛酸是一个八碳化合物，以氧化型与还原型两种形式存在于自然界。其结构如下：





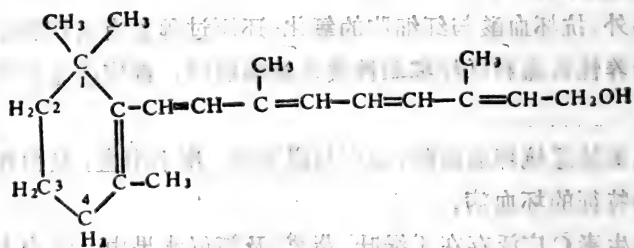
还原型硫辛酸

硫辛酸是脂溶性维生素,因其与辅酶关系密切,故放在这一节讲述。硫辛酸是丙酮酸脱氢酶系和 α -酮戊二酸脱氢酶系的辅酶,是一种酰基载体。硫辛酸是某些细菌和原生动动物生长所必需的,人体能够合成。人类一般不发生硫辛酸缺乏病。

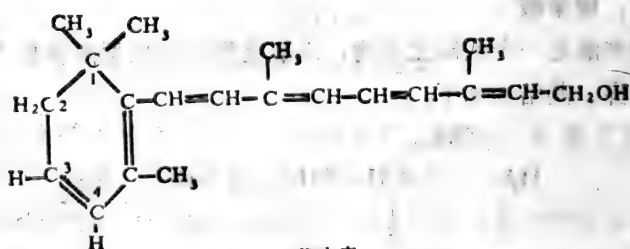
第二节 脂溶性维生素

一、维生素A

维生素A包括 A_1 及 A_2 两种。 A_1 是含有 β -白芷酮环的不饱和一元醇,即一般所说的视黄醇。 A_2 是 3-脱氢视黄醇。其结构如下:



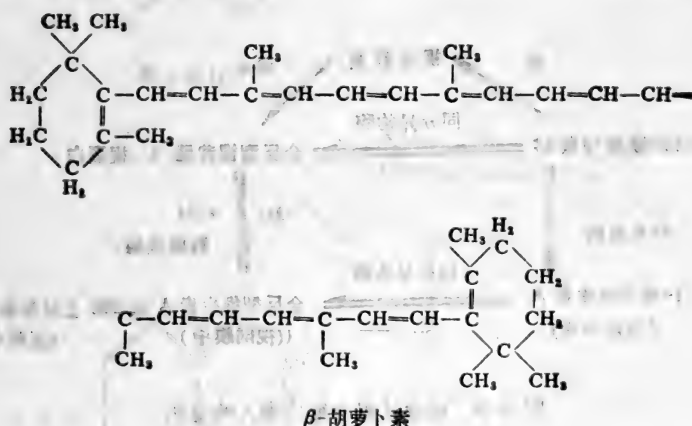
维生素 A_1



维生素 A_2

维生素A的化学性质活泼，在空气中易被氧化。紫外光照射可使其失去生理活性，故应避光保存。

维生素A主要存在于动物性食物中，以肝脏、蛋黄、奶油等含量最为丰富。A₁与A₂的来源不同。A₁主要存在于咸水鱼的肝脏，而A₂则主要存在于淡水鱼的肝脏。植物性食物中一般不含维生素A，只含有胡萝卜素。胡萝卜素在动物肠道中可转化为维生素A，故称为维生素A原。胡萝卜素包括α-胡萝卜素、β-胡萝卜素与γ-胡萝卜素。其中，β-胡萝卜素是主要的维生素A原，其结构式如下：



维生素A的生理功能比较广泛，对机体大多数组织的生长、发育都有影响，其中以与上皮组织和视觉的关系最为密切。

维生素A是维持一切上皮组织结构与功能健全所必需的物质。实验动物缺乏维生素A时，皮肤干燥，各种腺体退化。

维生素A在视觉作用中的生化原理已较清楚。人视网膜上有两类感觉细胞，其中圆锥细胞在强光下接受不同波长的可见光刺激，能够感觉到颜色；而杆状细胞对弱光敏感，与暗视觉有关。杆状细胞中含有感受暗光的视色素为视紫红质，它是由维生素A₁转

变成的 11-顺型视黄醛与视蛋白结合而成的络合物，在黑暗中结合，在弱光下分解。在弱光处视物时，视紫红质中的 11-顺型视黄醛感光，发生异构化反应变为全反型视黄醛，并与视蛋白解离，与此同时可出现神经冲动，引起视觉。眼睛对弱光的感光性取决于视紫红质的浓度。当血液对视网膜提供的维生素 A 不足时，视紫红质合成受阻，使视网膜不能很好感受弱光，在暗处辨别物体的能力降低，严重者完全丧失感受弱光的能力，称为夜盲症。供给足够的维生素 A，可以治疗夜盲症。视觉过程中维生素 A 的变化如图 6-5 所示：

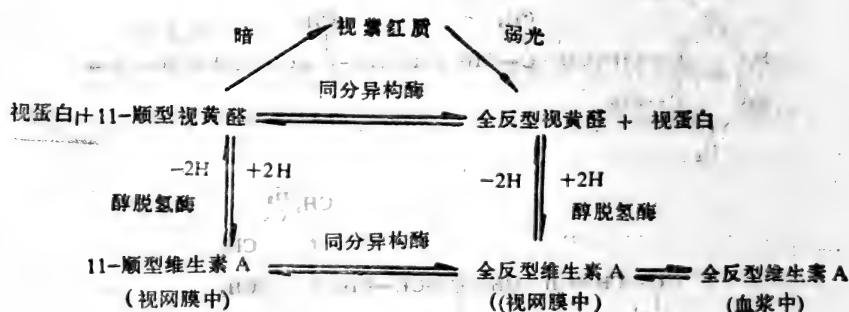


图 6-5 视觉过程中维生素 A 的变化

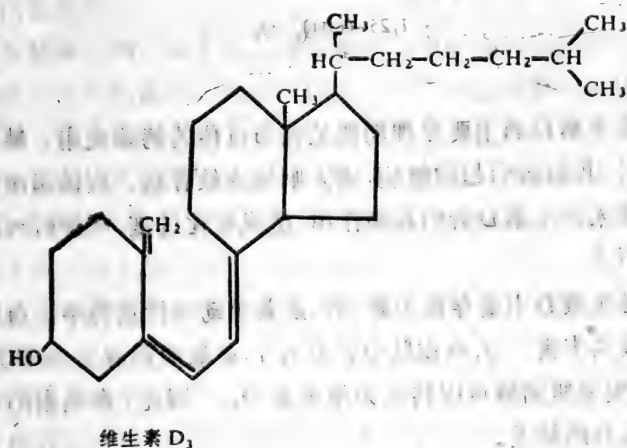
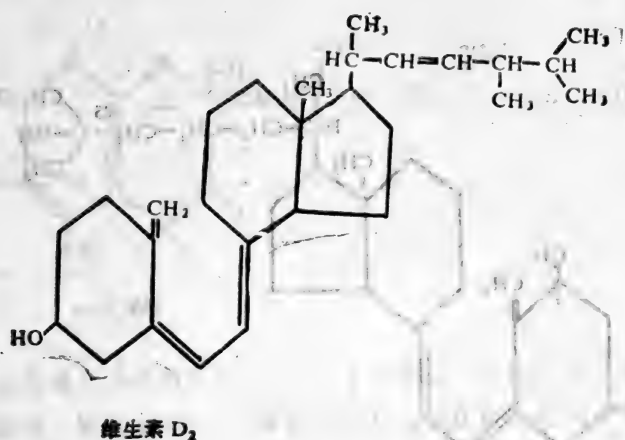
应该指出的是，摄入过量维生素 A 是有害的。在人类，会引起易怒、食欲不振、失眠，头痛，皮肤发痒、疲倦、脱毛、口角开裂、口唇龟裂出血、鼻出血等症状。

二、维生素 D

维生素 D 是类固醇的衍生物。维生素 D 的种类较多，其中以 D_2 (麦角钙化醇) 与 D_3 (胆钙化醇) 最为重要。维生素 D_3 是正常情况下哺乳动物维生素 D 的存在方式。

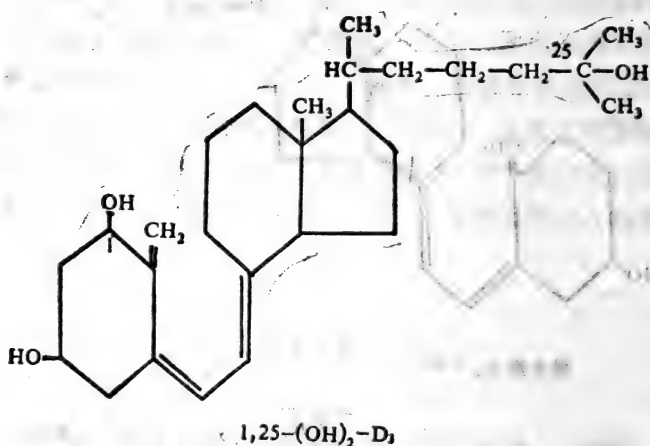
维生素 D_2 与 D_3 的结构相似， D_2 仅比 D_3 多了一个甲基及一

个双键。其结构如下：



维生素 D₂ 与 D₃ 都为无色结晶，耐热，对氧化剂、酸及碱均较稳定，不易被破坏。

近年来发现维生素 D 在体内的活性形式是 1, 25-二羟基胆钙化醇 (1, 25-(OH)₂-D₃)。体内维生素 D₃ 经肝脏、肠粘膜和肾组织的羟化作用转变成 1, 25-(OH)₂-D₃ 才能发挥生理作用。

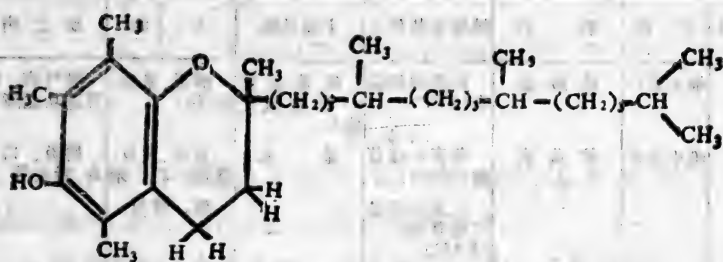


维生素D的主要生理功能是调节机体的钙磷代谢。缺乏维生素D时，儿童会引起佝偻病，成人则发生软骨病。应该指出的是，过量摄入维生素D会引起副作用，造成骨化过度，严重时可出现肾功能不全。

维生素D主要存在于肝、乳、蛋黄等动物性食物中。鱼肝油中含量最为丰富。人体皮肤中贮存有7-脱氢胆固醇，在日光照射下，7-脱氢胆固醇可以转变为维生素D₃。因此，多晒太阳可预防维生素D的缺乏。

三、维生素E

维生素E又名生育酚，自然界存在着许多种类型的维生素E，其中以α-生育酚生物活性最高。一般所说的维生素E即指α-生育酚，其结构如下：



α -生育酚

维生素E为黄色油状物,不溶于水而溶于油脂。不易被酸、碱及热破坏。极易被氧化,可保护其他易被氧化的物质免受氧化,故可用作抗氧化剂。

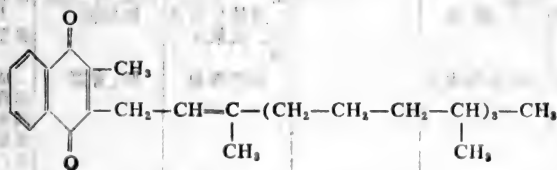
作为抗氧化剂,维生素E可使生物膜中脂类的高度不饱和脂肪酸免受分子氧的破坏,因而可以防止由红细胞破裂而造成的溶血。它还可以通过保护巯基不被氧化而保护某些酶的活性。

此外,维生素E还与动物的生殖功能有关。大鼠缺乏维生素E时,生殖功能退化。在人类,由于食物中维生素E来源充足,未发现由于维生素E缺乏而引起的人类不育症。

维生素E广泛存在于动植物组织中,其中尤以麦胚油、花生油、玉米油中含量较为丰富。

四、维生素K

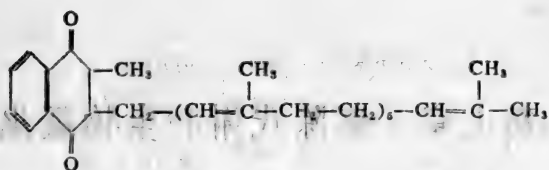
自然界中存在的维生素K有 K_1 和 K_2 两种。 K_1 和 K_2 都是2-甲基-1,4-萘醌的衍生物,其结构如下:



维生素 K_1

表 6-1 维生素与辅酶

类别	名 称	别 名	辅酶及其代号	主要功能	来 源	缺 乏 病
水 溶 性 维 生 素	维生素B ₁	硫 胺 素	焦磷酸硫胺素(TPP)	酰基载体 α -酮酸氧化脱羧	酵母、米糠、胚芽	脚气病、肠道功能障碍
	维生素B ₂	核 黄 素	黄素单核苷酸(FMN) 黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)	递 氢	麦芽、黄豆、肝肾、心、米糠、酵母	唇炎、口角炎、舌炎等
	维 生 素 PP	1. 尼克酸 和尼克酰胺 2. 抗癞皮病维生素	尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD ⁺) 尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP ⁺)	递 氢	肉类、谷类、花生、酵母	癞皮病
	泛 酸	遍 多 酸	辅酶 A (CoA)	酰基载体	广泛存在于动、植物组织	人类未发现缺乏病
	叶 酸		四氢叶酸(FH ₄ 或THF-A)	传递一碳单位	绿叶、肝、肾	恶性贫血
	维生素B ₆	吡 哆 醇 吡 哆 醛 吡 哆 胺	磷酸吡哆醛、磷酸吡哆胺	转氨基、脱羧基、消旋	酵母、肝、鱼、谷物	人类未发现典型缺乏病
	生物素	维生素H		CO ₂ 的载体	广泛存在于动、植物组织	人类未发现典型缺乏病
	维生素B ₁₂	钴 胺 素	维生素B ₁₂ 辅酶	分子内基团重排、转甲基	肝、肉类	恶性贫血
	维生素C	抗坏血酸		羟基化、递氢	新鲜水果、蔬菜	坏血病
	硫 辛 酸		S L S	酰基载体	酵母、肝	人类未发现缺乏病
脂 溶 性 维 生 素	维生素A	抗干眼病维生素		使上皮组织正常发育、视觉红质的成分	鱼肝油、肝、青菜	夜盲症、干眼病
	维生素D	抗佝偻病维生素		调节钙磷代谢	鱼肝油、肝、蛋黄	佝偻病、软骨病
	维生素E	生 育 酚		维持生殖功能、抗氧化作用	植物油	人类未发现典型缺乏病
	维生素K	凝血维生素		促进凝血	肝、青菜	成人一般不出现缺乏病，偶见于新生儿及胆管阻塞患者，表现为凝血时间延长



维生素 K₂

维生素 K₁ 为黄色油状物, K₂ 为淡黄色结晶, K₁ 和 K₂ 对热都比较稳定, 对光则很敏感, 故应在暗中保存。

维生素 K 具有促进血液凝固的作用, 因此又称为凝血维生素。它可以促进凝血酶的前身物——凝血酶原的生物合成。缺乏维生素 K 时, 血液凝固时间延长, 会发生因小损伤而引起流血不止的现象。

猪肝、蛋黄及白菜、菜花、菠菜、甘蓝等蔬菜中都含有丰富的维生素 K。人和动物肠内的细菌亦能合成维生素 K, 故成人一般不出现缺乏病。

维生素和辅酶的关系, 它们的生理功能和缺乏病总结于表 6-1。

思考题

1. 什么是维生素? 维生素包括几种类型?
2. 水溶性维生素以何种方式影响机体的代谢反应?
3. 哪些维生素服用过量会产生副作用?
4. 维生素 B₂ 与维生素 PP 的辅酶形式如何? 其相应辅酶的主要功能及参加代谢反应的功能基团是什么?
5. TPP、NAD⁺、NADP⁺、FAD、FMN、CoA、FH₄ 中各含有哪种维生素? 它们分别代表何种辅酶?

第七章 新陈代谢和生物氧化

前几章讨论了生物体的物质组成及其结构和性质,习惯上称为“静态生物化学”。从这章开始,将重点讨论生命物质在生物体内的运动,包括物质代谢和能量代谢,习惯上称为“动态生物化学”。

第一节 新陈代谢的概念

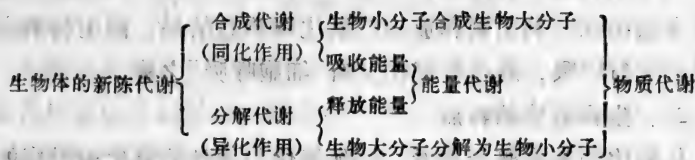
一、新陈代谢的一般概念

新陈代谢是一切生命的最基本特征。广义的新陈代谢是泛指生物与周围环境进行物质交换和能量交换的过程。从最简单的有生命物质到最复杂的人类有机体,都与其周围的环境不断地进行着物质交换。如人在一生中大约由外界摄取 75 吨水、17.5 吨糖、2.5 吨蛋白质和 1.3 吨三酰基甘油,即一生中 与外界交换了 96.3 吨的物质。新陈代谢过程包括营养物质的消化吸收、物质在细胞内的合成和分解、代谢废物的生成和排泄等阶段。通常把物质在细胞内的合成和分解过程称为中间代谢。以下各章着重讨论中间代谢。

二、分解代谢和合成代谢

生物体的中间代谢由分解代谢和合成代谢组成。生物体内的生物大分子经过复杂的生化反应,转变为生物小分子的过程,称为分解代谢;生物体内的生物小分子,经一系列生化反应,转变为自己的组成成分,这个过程称为合成代谢。前者释放能量,后者吸取能量。生物分子的分解和合成过程称为物质代谢;与物质代谢相伴随的能量吸收、贮存、释放、转移和利用的过程,称为能量代

谢。



分解代谢和合成代谢密切相关,它们相互依存又相互制约。一个合成代谢过程常包括许多分解反应,一个分解过程也常包括许多合成反应。在能量代谢的放能和吸能两方面也是相互联系,相互制约的。总之,合成为分解准备物质前提,外部物质转变为内部物质;同时,分解为合成提供必要的能量;内部物质又转变为外部物质。

三、新陈代谢的特点

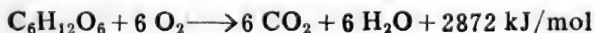
各种生物的新陈代谢过程虽然复杂,但却有共同的特点。生物体内绝大多数的代谢反应是在温和条件下由酶催化进行的;生物体内各种生化反应彼此协调,有条不紊,有严格的顺序性;物质的分解、合成和能量的释放、利用都是逐步进行的;生物体对内外环境有高度的适应性和灵敏的自动调节。新陈代谢实质上就是错综复杂的化学反应相互配合,彼此协调,对环境高度适应而形成的一个有规律的总过程。

新陈代谢推动着生物个体的发展,呈现出生长、运动、发育、繁殖、衰老等不同阶段。新陈代谢一旦停止,生命也随之停止。

第二节 生物氧化的涵义

一、生物氧化的概念

能量是一切生物机体活动所必需的。能量的来源,主要依靠生物体内糖、脂肪、蛋白质等有机物质的氧化作用。有机物质在生物体细胞内氧化分解并释放能量的过程,称为生物氧化。如:



高等动物通过肺部进行呼吸,吸入氧气,排出二氧化碳,实际上是各组织细胞利用氧和放出二氧化碳的总结果。微生物则以细胞直接进行呼吸,故生物氧化又有“细胞呼吸”之称。

二、生物氧化的特点

从氧化的基本概念来看,生物氧化与体外的氧化或燃烧的化学本质是相同的,都是包括脱氢、失去电子和与氧化合的过程,并且释放相等的能量,但它们所进行的方式却大不相同。生物氧化的特点是:生物氧化是在活细胞内、在体温和近于中性的水溶液中并在一系列酶的作用下逐步进行的。在整个过程中不冒烟,不发光,其能量逐步释放,总能量与体外同一反应释放的能量相同。这样产生的能量既不会使体温突然上升而损伤机体,又可以使释放的能量得到有效的利用。生物氧化过程中逐步释放的能量通常先贮存在一些特殊的高能化合物主要是ATP等中,以后再经转化作用,供给机体的各种需能反应。

水不仅为生物氧化提供环境,而且直接参加生物氧化过程,如在体内广泛进行的加水脱氢反应、水解反应等。

在真核生物的细胞内,生物氧化主要在线粒体内进行,在不含线粒体的原核生物如细菌细胞内则在细胞膜上进行。

三、生物氧化的生物学意义

生物的一切活动都需要能量。所有生物进行运动都需要大量的、稳定的和严格控制能量供应;生物体所有细胞组织的形成和复杂化合物的合成都需要消耗能量。在温血动物中,部分能量表现为热的形式以保持机体的体温;在某些生物中部分能量还表现为电和光的形式。可以说没有能量供应就没有生命。生物体所需的能量,来源于糖、脂类、蛋白质在体内的氧化,亦即来自生物氧化作用,所以,没有生物氧化,体内有机物质则无法进行代谢,生物体就不能取得生命所需的能量。

第三节 生物氧化中水的生成

生物氧化的过程,主要是代谢物分子上的氢如何和氧结合生成水并释放能量的过程。代谢物中的氢由相应的脱氢酶催化脱落,交给电子传递链,2H放出电子变为 $2H^+$,在氧化酶催化下,氧接受电子变成 O^{2-} ,最后 $2H^+$ 和 O^{2-} 结合而生成水。其过程表示如图7-1。

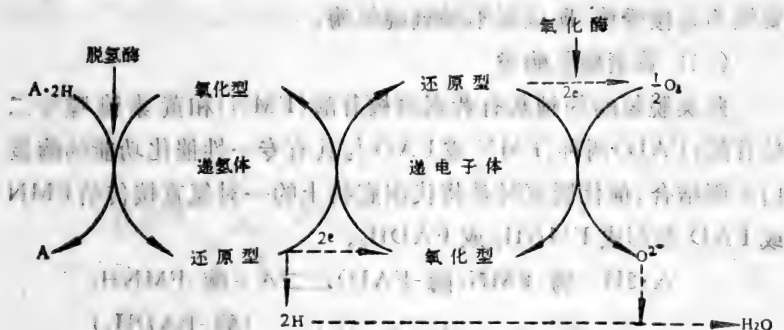


图 7-1 生物氧化的过程

呼吸链的组成

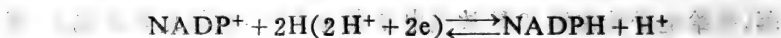
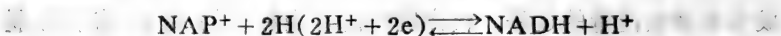
生物氧化过程中的传递体有多种,有的是递氢体,如 NAD^+ 、 $NADP^+$ 、 FMN 、 FAD 和辅酶 Q 等;有的是递电子体,如细胞色素 b 、 c_1 、 c 、 a 和 a_3 等。由这些传递体按一定顺序组成传递链把代谢物上被脱氢酶激活而脱落的氢原子,传递给被激活的氧分子,而生成水的全部体系,称为呼吸链。此体系通常也称为电子传递体系或电子传递链。

呼吸链的组成成分有烟酰胺脱氢酶类、黄素脱氢酶类、铁硫蛋白类、细胞色素类和辅酶 Q 类等。现简述如下:

(一) 烟酰胺脱氢酶类

以 NAD^+ 或 $NADP^+$ 为辅酶的脱氢酶,目前已知有 200 多

种。催化脱氢时,其辅酶先与酶的活性中心结合,然后再脱下来。在生理条件下,它接受一个氢原子和一个电子还原成 NADH 或 NADPH。



NADH(NADPH)不能将氢直接传给氧以形成水,而必须通过其他递体,间接地把氢传给氧。由于此类酶催化脱落的氢不需要氧为直接受体,所以属不需氧脱氢酶。

(二) 黄素脱氢酶类

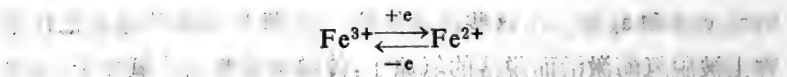
此类脱氢酶的辅基有黄素单核苷酸(FMN)和黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)两种,FMN 或 FAD 与具有专一性催化功能的酶蛋白牢固结合,催化脱氢时是将代谢底物上的一对氢直接传给 FMN 或 FAD 而形成 FMNH₂ 或 FADH₂。



(三) 铁硫蛋白类(Fe-S)

铁硫蛋白已知有多种,如 Fe₂S₂、Fe₄S₄等。Fe₂S₂ 含有两个非卟啉铁和对酸不稳定的硫,通过四个半胱氨酸与蛋白质相连,由它们组成一个活性部位,称为铁硫中心,结构如图 7-2。

其作用是借非卟啉铁化合价的互变进行电子传递。



在从 NADH 到氧的呼吸链中,有多个不同的铁硫中心,有的在 NADH 脱氢酶中,有的与细胞色素 b 及 C₁ 有关。虽然它的作用与电子传递有关,但详细作用尚不清楚。

(四) 辅酶 Q 类

辅酶 Q 是一类脂溶性的醌类化合物,因广泛存在于生物界,故又称为泛醌。

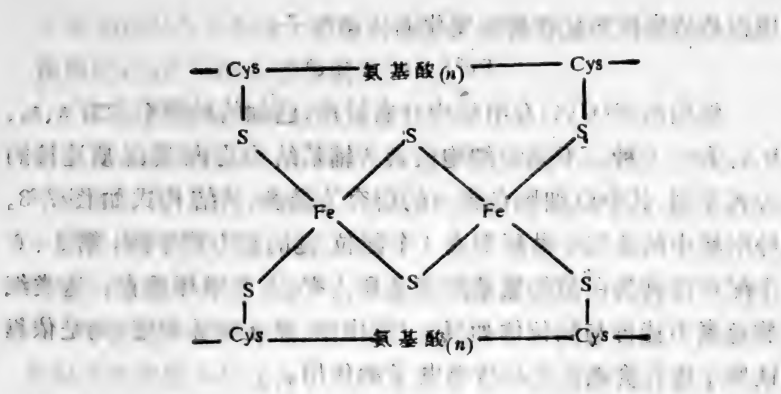
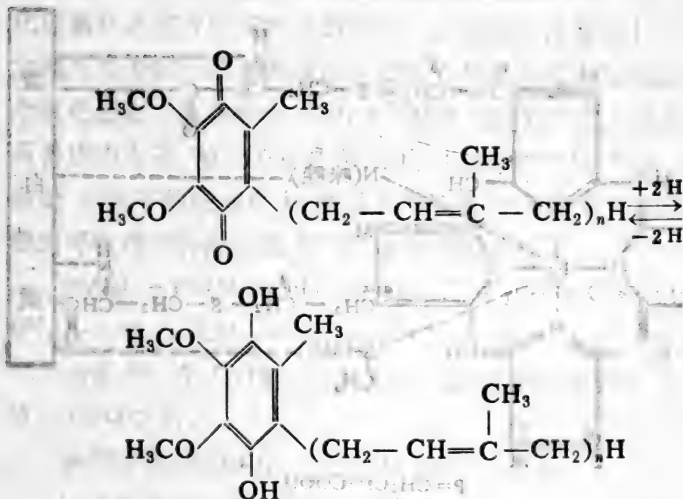


图 7-2 铁硫中心结构示意图



其分子中的苯醌结构能可逆地加氢还原而形成氢醌，它属于中间递氢体。不同来源的辅酶 Q，其侧链长度不同，所含的异戊二烯单位一般在 6—10 之间。

(五) 细胞色素类

细胞色素类存在于需氧生物细胞的线粒体内膜上,有一些存在于内质网上,是一类以铁卟啉为辅基的蛋白质。在呼吸链中的作

用也是依靠铁的化合价的变化而传递电子。



细胞色素(Cyt)在组织中分布极广,已知的种类至少有 a 、 a_3 、 b 、 c_1 和 c 五种。不同的细胞色素其辅基结构及与蛋白质连接的方式不同,其中以细胞色素 c 的研究为最多,其结构式如图 7-3。卟啉环中的铁与卟啉环形成 4 个配位键的正方形平面,第 5、6 个配位键被蛋白质的氨基酸残基所占据,与卟啉环垂直。这类细胞色素不能再与配位体如氧、一氧化碳、氰化物等相连,而是依靠铁原子进行价态变化起传递电子的作用。

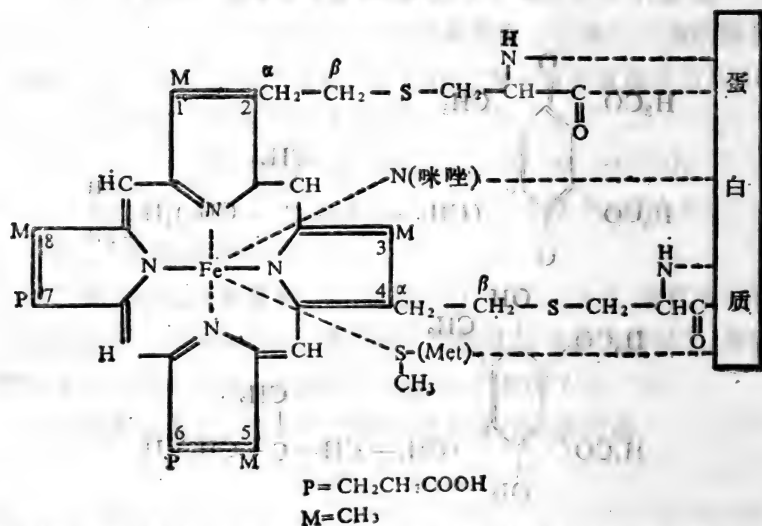


图 7-3 细胞色素 C

细胞色素 a_3 和其他细胞色素不同,它可以被分子氧直接氧化。在结构上,除含卟啉铁外,还有 2 个铜原子,铁原子形成 5 个配位键,还保留一个能与 O_2 、 CO 、 CN^- 等结合的配位键。由于细胞色素 a 和 a_3 很难分开,故把它们合称为细胞色素氧化酶。其

正常功能是与氧结合,它们一经结合,细胞色素 C 氧化酶被氧迅速氧化,而氧则随即还原成水。

二、呼吸链的类型和递体的顺序

在具有线粒体的生物中,典型呼吸链有两种类型,即 NADH 呼吸链和 FADH_2 呼吸链。这是根据接受代谢底物上脱落的氢的一级受体不同来区分的,以 NAD^+ 为一级受体的呼吸链称为 NADH 呼吸链,以 FAD 为一级受体的呼吸链称为 FADH_2 呼吸链。

呼吸链中氢和电子的传递是有严格顺序和方向的,这顺序和方向主要根据各传递体的标准氧化还原电位($E^{\circ'}$)的高低;用分离出的递体进行重组实验;通过吸收光谱的变化来测定各递体的氧化还原状态等方法而得到的结论。下面就以传递体 $E^{\circ'}$ 的高低确定顺序和方向作简要的叙述。按热力学自由能变化的原理,在一个氧化还原反应体系中,只有 $E^{\circ'}$ 较高的体系才能接受 $E^{\circ'}$ 较低体系丢出的电子,即电子总是从低 $E^{\circ'}$ 向高 $E^{\circ'}$ 方向转移, $E^{\circ'}$ 数值愈低,供电子的倾向愈大,愈易成为还原剂,而处在呼吸链的前面。根据呼吸链中各递体的 $E^{\circ'}$ 值,其顺序是:

$\text{NAD}^+ \rightarrow \text{FMN} \rightarrow \text{CoQ} \rightarrow \text{Cytb} \rightarrow \text{CytC}_1 \rightarrow \text{CytC} \rightarrow \text{Cytaa}_3 \rightarrow \text{O}_2$
 $E^{\circ'}: -0.32 \quad -0.03 \quad +0.1 \quad +0.05 \quad +0.22 \quad +0.25 \quad +0.29 \quad +0.82$

根据 $E^{\circ'}$ 值, Cytb 本应在 CoQ 之前,但其他实验证明 Cytb 位于 CoQ 之后。

典型呼吸链的氧化-还原反应如图 7-4 所示。

以上的氧化还原反应是不可逆的。

在典型的呼吸链中,以 NADH 呼吸链最为广泛存在,糖、脂肪、蛋白质三大物质的分解代谢中脱下的氢,其氧化反应绝大部分是通过这类呼吸链完成的,实验证明,细胞所利用的氧,有 95% 通过这类呼吸链与氢结合成水。

生物体中除两类典型呼吸链外,还有其他形式,有的是中间递体成员不同,有的缺少辅酶 Q,如分枝杆菌用维生素 K 代替 CoQ ,

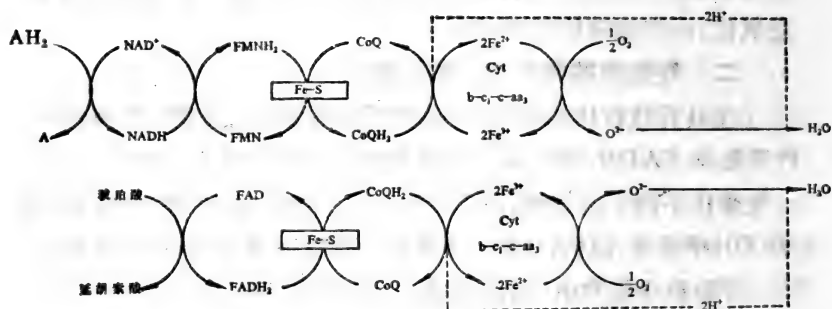


图 7-4 典型呼吸链
上：NADH 呼吸链。下：FADH₂ 呼吸链。

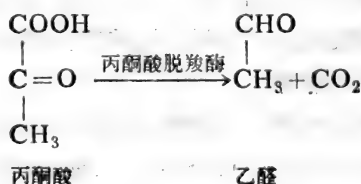
还有大多数细菌没有完整的细胞色素系统。但尽管有很多差异，而呼吸链传递电子的顺序，基本上还是一致的。生物进化愈高级，呼吸链就愈完善。

第四节 生物氧化中二氧化碳的生成

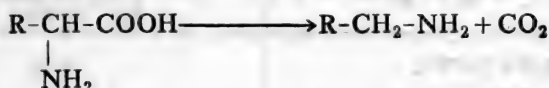
生物氧化中产生的 CO₂，并非代谢物的碳原子与氧直接化合的结果，而是代谢物在体内代谢过程中产生许多不同的有机酸，有机酸经酶的作用脱羧生成的。脱羧反应有两类：

一、直接脱羧反应

α -酮酸及 α -氨基酸可被低等生物所含的脱羧酶催化而直接脱羧。酵母、细菌和植物体中的脱羧酶，能使 α -酮酸脱羧产生 CO₂ 和相应的醛。

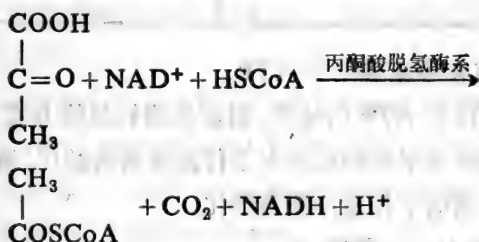


许多细菌,特别是肠道细菌能使 α -氨基酸直接脱羧产生 CO_2 和相应的胺。催化此反应的酶为 α -氨基酸脱羧酶。



二、氧化脱羧反应

α -酮酸可在脱氢酶系作用下进行氧化脱羧反应,此反应相当复杂,也需要比较复杂的酶体系,其机制在糖代谢章讨论。



第五节 氧化磷酸化作用

一、氧化磷酸化概念

生物通过生物氧化所释放的能量,部分通过磷酸化作用转移至高能磷酸化合物中,另一部分转化为热能用于维持体温。这种伴随放能的氧化过程而进行的磷酸化作用,称为氧化磷酸化作用。

所谓高能化合物,是指在标准条件下水解产生大量自由能的化合物。在生化反应中,某些化学键在水解反应时,可放出大量自由能而称为高能键,常用“~”符号表示。机体中存在的常见高能化合物见表7-1,其中以ATP为最重要。

二、ATP的生成、转移、贮存和利用

(一) ATP的生成

氧化磷酸化作用是将生物氧化过程中放出二羟丙酮,穿出线粒体,同时使FAD还原为 FADH_2 并进入FAD呼吸链氧化产生ATP。这种穿梭作用主要存在于肌肉、神经组织,比在线粒体内

表 7-1 常见高能化合物

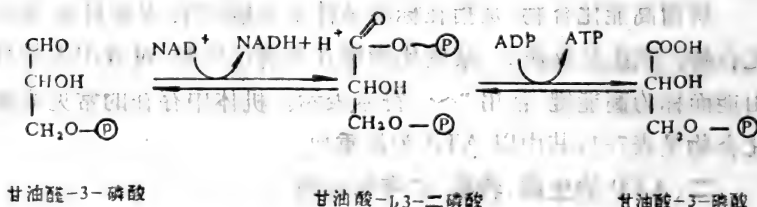
化 合 物	水解标准自由能 $\Delta G^{\circ} (KJ/mol)$
磷酸烯醇式丙酮酸	-61.9
1,3-二磷酸甘油酸	-49.3
肌酸磷酸	-43.1
磷酸精氨酸	-32.2
乙酰辅酶A	-31.4
ATP	-30.5

NADH 的氧化少生成一个 ATP。

能量转移至 ATP 的过程,根据生物氧化的方式,可将氧化磷酸化分为底物水平磷酸化和电子传递体系磷酸化,通常所说的氧化磷酸化即指电子传递体系磷酸化。

1. 底物水平磷酸化

底物水平磷酸化是在被氧化的底物上发生磷酸化作用。即底物被氧化过程中,形成某些高能磷酸化合物,再通过酶的作用,使 ADP 磷酸化为 ATP。如糖分解代谢时,甘油醛-3-磷酸的氧化过程中,形成了高能磷酸化合物(甘油酸-1,3-二磷酸),通过磷酸甘油酸激酶作用,使 ADP 变为 ATP。



底物水平磷酸化也是捕获能量的一种方式,其过程和氧的存在与否无关。

2. 电子传递体系磷酸化

当电子从 NADH 或 FADH_2 经呼吸链传递给氧形成水时,伴有 ADP 磷酸化为 ATP ,这一全过程称为电子传递体系磷酸化。这是生成 ATP 的一种主要方式,也是生物体内能量转移的主要环节。

ATP 的生成量可通过测定呼吸链的 P/O 值求出。 P/O 比值是指每消耗一摩尔氧原子所消耗无机磷的摩尔数。实验表明, NADH 呼吸链的 P/O 值是 3,即每消耗一摩尔氧原子可生成 3 摩尔的 ATP ; FADH_2 呼吸链的 P/O 值是 2,即每消耗一摩尔氧原子可生成 2 摩尔 ATP 。

电子传递过程中生成 ATP 的部位已经弄清,根据实验证明, NADH 呼吸链上的 NADH 和 CoQ 、细胞色素 b 和细胞色素 c 、细胞色素 a 和氧之间三个部位,可被特异性抑制剂切断,此之处也即是释放能量生成 ATP 的部位(图 7-5)。

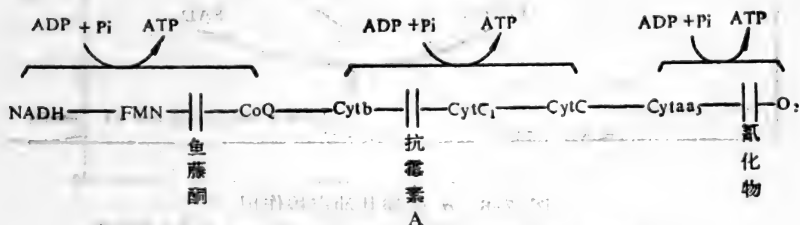


图 7-5 电子传递体系生成 ATP 的部位

电子传递体系磷酸化是在线粒体内膜上进行的,但在胞液中产生的 NADH 不能正常进入线粒体内膜,因此线粒体外的 NADH 要进入电子传递体系氧化必须通过较为复杂的过程。据现在了解,线粒体外的 NADH 可将其所带的氢交给某种能透过线粒体内膜的化合物,此化合物将氢带入线粒体后又交给传递体,其本身再穿出线粒体,形成一个穿梭作用。例如磷酸甘油穿梭作用,如图 7-6 所示。胞液中的 NADH 在 α -磷酸甘油脱氢酶催化下,使磷酸

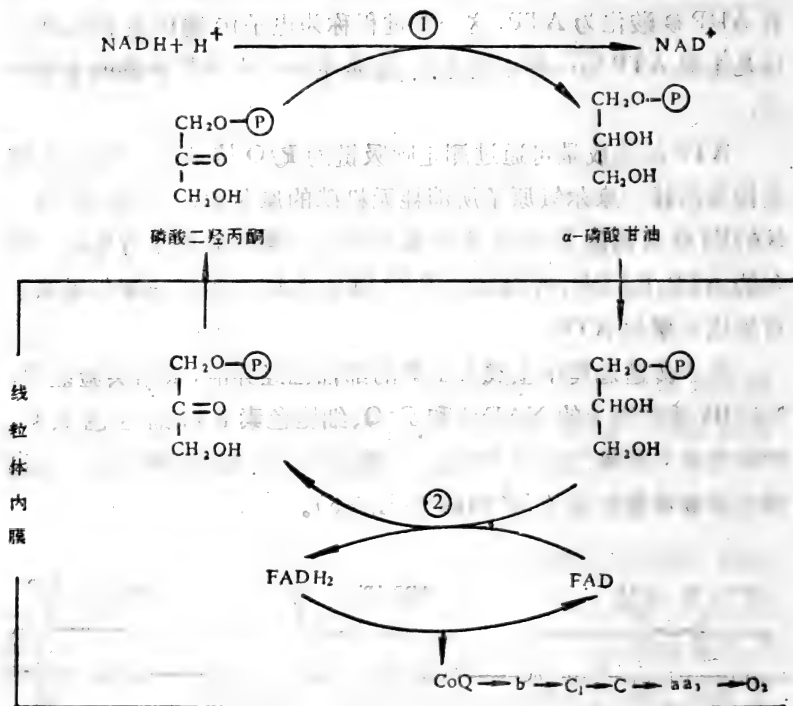


图 7-6 α -磷酸甘油穿梭作用

① 胞液中 α -磷酸甘油脱氢酶。② 线粒体内膜 α -磷酸甘油脱氢酶

二羟丙酮还原为 α -磷酸甘油,后者进入线粒体内膜,受内膜上的 α -磷酸甘油脱氢酶作用,重新生成磷酸二羟丙酮,同时把 2H 转移给 FAD,生成 FADH_2 。

(二) ATP 的转移和贮存

机体细胞内存在着各种磷酸化合物,任何一种磷酸化合物都倾向于将它的磷酸基团转移给比本身低能的磷酸受体分子,如细胞内的 ATP—ADP 磷酸转移系统。在特异性的磷酸转移酶作用下,ADP 可以接受比 ATP 高能的化合物的磷酸基团形成 ATP。

例如：



形成的 ATP 成为特殊的磷酸供体，在酶促反应中可将其磷酸基团转移给比 ATP 低能的受体，使受体磷酸化。例：



在磷酸基团的转移过程中，ATP 处于中间位置，是一个“共同中间体”，其中间作用可用图 7-7 表示。

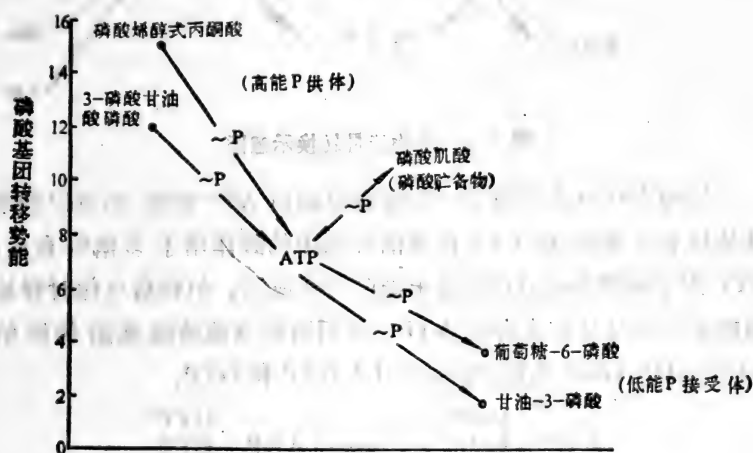


图 7-7 磷酸基团转移图

ATP 虽然在供能方面起重要作用，但它不是化学能量的贮存库，严格地说，ATP 只是一个能量的携带者或能量的传递体。真正起贮存能量作用的物质，在脊椎动物中是肌酸磷酸。当 ATP 浓度高时，肌酸通过酶的作用直接接受 ATP 的高能磷酸基团形成肌酸磷酸；当 ATP 浓度低时，肌酸磷酸又将高能磷酸基团转移给 ADP，使 ATP 经常维持一定浓度。在无脊椎动物中，起贮存能量作用的物质是精氨酸磷酸。

（三）ATP 的利用

通过 ATP-ADP 磷酸转移作用,使它们既可接受能量又可支付能量。所有生物体中能量的释放、贮存和利用,都以 ATP 为中心,它们之间的关系见图7-8。

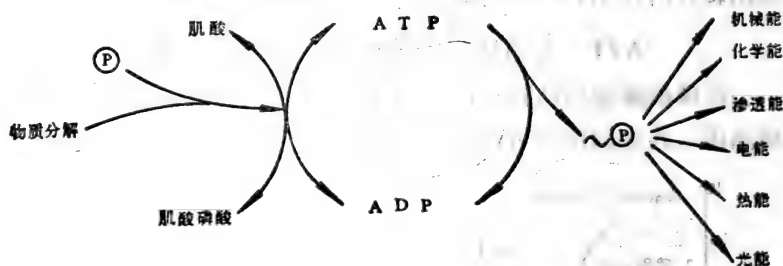


图 7-8 生物能量转换示意图

体内有些合成反应不一定都直接利用 ATP 供能,而可以利用其他核苷三磷酸,如 UTP 作为活性基团的载体用于多糖的合成,CTP 用于磷脂合成,GTP 用于蛋白质合成等。但物质氧化时释放的能量大部分是首先合成 ATP,然后再将高能磷酸基团转移给 UDP、CDP、GDP 生成相应的 UTP、CTP 和 GTP。



三、氧化磷酸化作用机理——化学渗透学说

氧化磷酸化作用的机理,虽在近20年来进行了许多研究,但氧化与磷酸化究竟如何偶联尚不很清楚。目前主要有三种学说,即化学偶联学说,构象偶联学说和化学渗透学说,其中后者获得较多的实验支持。

化学渗透学说首先由米切尔(Mitchell)于1961年提出,以后(1974),米切尔和莫尔(Mogle)作了修改,其要点是:呼吸链存在于线粒体内膜上,进行氧化时,递氢体从内膜内侧接受 2H 后,将2个电子传给递电子体,而将 2H^+ 泵出内膜外侧。泵出内膜外侧的

H^+ 不能自由返回膜内侧,因而膜外侧 H^+ 浓度高于内侧、形成 H^+ 浓度的跨膜梯度(图7-9)。 H^+ 浓度差使外侧的 pH 较内侧低 1.0 单位左右,并使原有外正内负的跨膜电位增高,这电位差和 H^+ 浓度差构成质子推动力,推动质子由外侧进入内侧并引起 ADP 和 Pi 脱水生成 ATP。

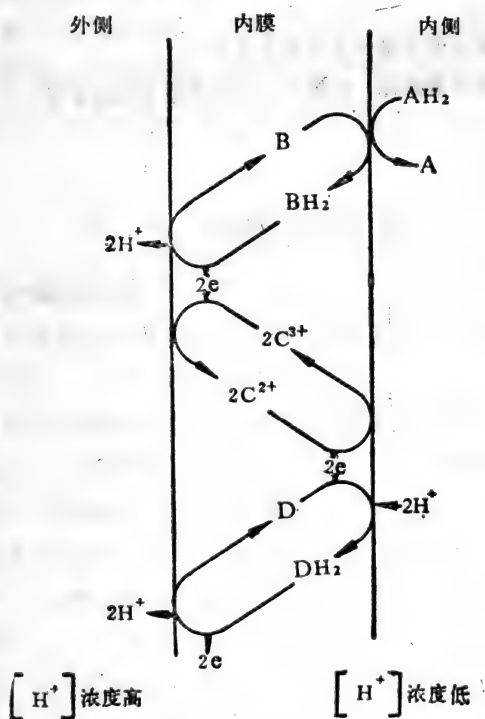


图 7-9 $[H^+]$ 跨膜梯度的形成
 AH_2 底物, B、D 递氢体, C 递电子体

化学渗透学说虽一直比较流行,但还不能认为尽善尽美,特别是近年来不断报导与此学说相矛盾的实验结果,所以氧化磷酸化作用机理还有待进一步的研究。

思 考 题

1. 什么是新陈代谢？它有什么特点？
2. 什么是物质代谢和能量代谢？
3. 什么是生物氧化？
4. 什么是呼吸链？比较 NADH 呼吸链 和 FADH_2 呼吸链的作用特点。
5. 生物体内的能量转换有哪几种形式？
6. 何谓氧化磷酸化？扼要讨论化学渗透学说的要点。

第八章 糖 代 谢

糖类是自然界分布最广的一类有机物质，是生物体内重要成分之一。糖类是生物体的重要能源和碳源。生物从糖类的分解中获得所需的能量，同时糖类代谢的中间产物可转变为其他化合物或为合成其他化合物提供碳原子或碳链骨架，以构成组织细胞。

第一节 糖的分解代谢

一、糖的酶促降解

糖类中的多糖和低聚糖，分子大，不能透过细胞膜，在被生物体吸收利用之前，必须先酶促降解为单糖。

淀粉或糖原的酶促水解：水解淀粉和糖原的酶称为淀粉酶，有 α -淀粉酶和 β -淀粉酶两种，前者主要存在动物体中，后者主要存在植物种子和块根内，它们所水解的都是 α -1,4-糖苷键，对 α -1,6-糖苷键不起作用。其中 α -淀粉酶可水解多糖链上的任何一个部位的 α -1,4糖苷键， β -淀粉酶只能从非还原端开始水解，释放出麦芽糖单位。水解 α -1,6-糖苷键的酶为 α -1,6糖苷键酶，又称糊精酶。淀粉酶水解淀粉的产物是糊精和麦芽糖的混合物。

在细胞内，淀粉或糖原的降解常通过磷酸化酶的磷酸解作用生成葡萄糖-1-磷酸。

二糖的酶水解：二糖在二糖酶催化下进行水解，二糖酶中最重要的除麦芽糖酶、纤维二糖酶外，还有蔗糖酶、乳糖酶等。它们都属于糖苷酶类，广泛分布于微生物、植物、动物及人体的小肠液中，水解产物为单糖。

糖的进一步氧化分解是生物体获取能量的方式，为了尽量利用糖分子中蕴藏的能量，生物体采用的取能方式是复杂、微妙和高效率的。葡萄糖或糖原在体内的分解主要有糖酵解、糖的有氧氧化和磷酸戊糖途径。在微生物和植物体中，还有生醇发酵和乙醛酸循环途径。

二、糖酵解途径

(一) 糖酵解的概念

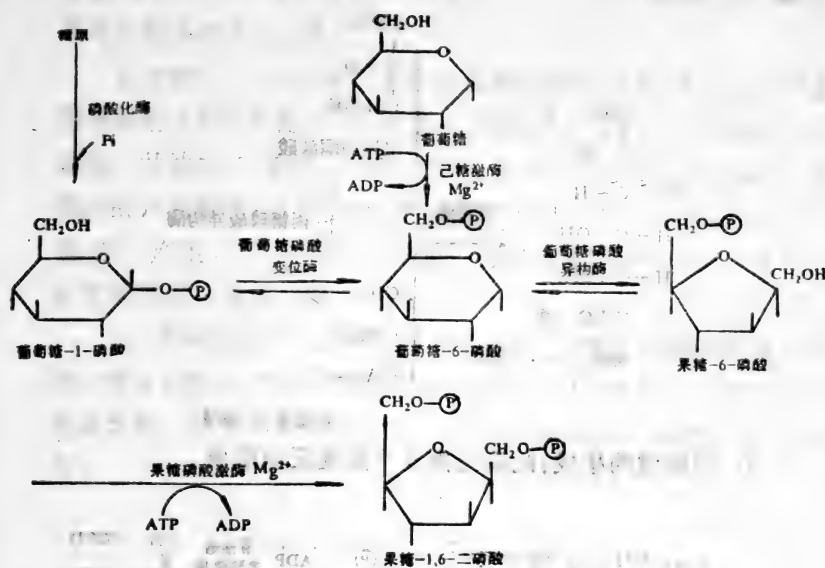
动物细胞内，糖在无氧条件下分解为乳酸的复杂过程，称为糖酵解。酵解和生醇发酵的酶促途径大致相同，只是在最后需要两个不同的酶促步骤。糖分解成丙酮酸之后，生醇发酵时，丙酮酸经丙酮酸脱羧酶催化脱羧形成乙醛，乙醛由乙醇脱氢酶作用还原为乙醇。酵解时因细胞内不含丙酮酸脱羧酶，而由乳酸脱氢酶催化还原成乳酸。



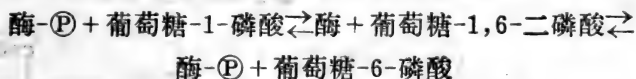
(二) 酵解的酶促过程

糖酵解作用在胞液中进行，全过程由 12 个酶促反应组成。为叙述方便，将全过程划分为 4 个阶段。

1. 己糖二磷酸酯的生成：从糖原开始有 4 个酶促反应，若从葡萄糖开始，则经 3 个酶促反应。

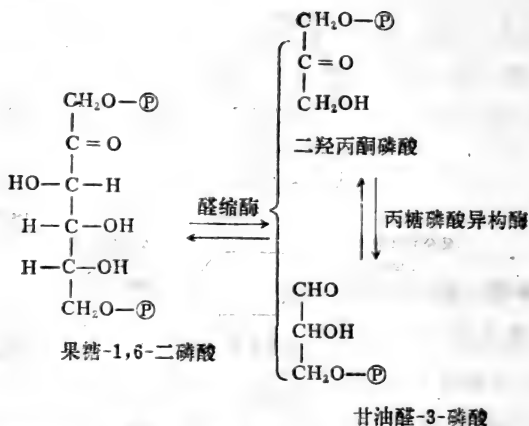


上述反应中，由己糖激酶和果糖磷酸激酶催化的反应是吸能反应，需要消耗 ATP，是酵解过程的第一、第二个限制速率的步骤。变位酶催化的反应需葡萄糖-1,6-二磷酸参加，变位的机制不是葡萄糖-1-磷酸分子内部的磷酸基转移，而是通过葡萄糖磷酸变位酶的磷酸化型和非磷酸化型的互变而实现的。

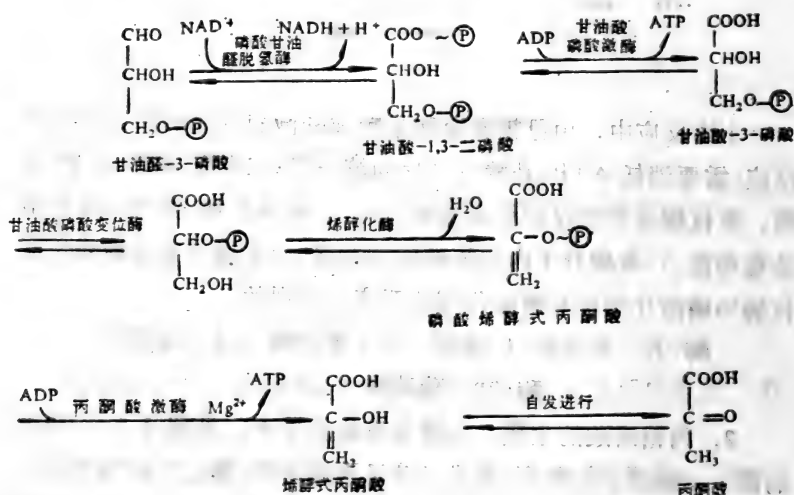


2. 丙糖磷酸的生成：在醛缩酶的作用下，果糖-1,6-二磷酸的第 3,4 碳原子间断裂，生成两分子丙糖磷酸，即二羟丙酮磷酸和甘油醛-3-磷酸。两者在丙糖磷酸异构酶作用下可以互变。在平衡混合物中，二羟丙酮磷酸占 96%。由于甘油醛-3-磷酸不断氧化成甘油酸-1,3-二磷酸，二羟丙酮磷酸在丙糖磷酸异构酶作用下，转变为甘油醛-3-磷酸，故可认为一分子葡萄糖可转变为两分子甘

油醛-3-磷酸。



3. 丙酮酸的生成:此阶段由 5 个酶促反应组成。

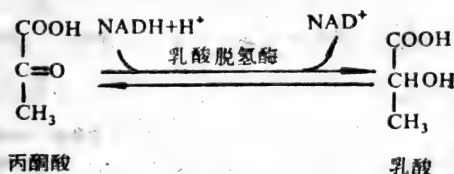


甘油醛-3-磷酸的氧化是糖酵解过程中的第一个氧化还原反应,催化此反应的酶是甘油醛-3-磷酸脱氢酶,此酶催化甘油醛-3-磷酸脱氢生成甘油酸-1,3-二磷酸,脱下的氢由 NAD^+ 接受使之

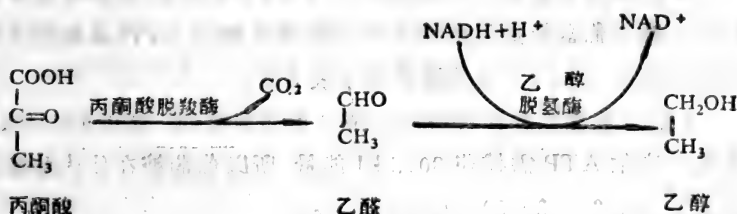
变成 NADH。在无氧条件下, NADH 用于还原丙酮酸, 而在有氧条件下则由呼吸链氧化。

甘油酸-1,3-二磷酸在甘油酸磷酸激酶作用下, 其高能磷酸基团转移给 ADP 形成 ATP (底物水平磷酸化), 同时生成甘油酸-3-磷酸。甘油酸-2-磷酸在烯醇化酶催化下生成含高能磷酸键的磷酸烯醇式丙酮酸, 后者在丙酮酸激酶作用下, 再一次进行底物水平磷酸化, 产生 ATP 并生成丙酮酸。丙酮酸激酶催化的反应是酵解过程的第三个限速步骤。

4. 丙酮酸还原成乳酸: 在无氧条件下, 通过乳酸脱氢酶的作用, 使甘油醛-3-磷酸脱氢酶催化产生的 NADH 用于还原丙酮酸生成乳酸, 同时再生成 NAD^+ 。又参与甘油醛-3-磷酸的氧化作用。



在植物和微生物中, 丙酮酸则经胞液中的丙酮酸脱羧酶作用脱去羧基生成乙醛, 然后再由乙醇脱氢酶作用, 磷酸以甘油醛脱氢生成的 NADH 把乙醛还原为乙醇, 同时再生 NAD^+ 。这种由葡萄糖转变为乙醇的复杂过程, 称为生醇发酵。



综合上述四个阶段反应, 可将糖酵解的全过程概括为图 8-1。

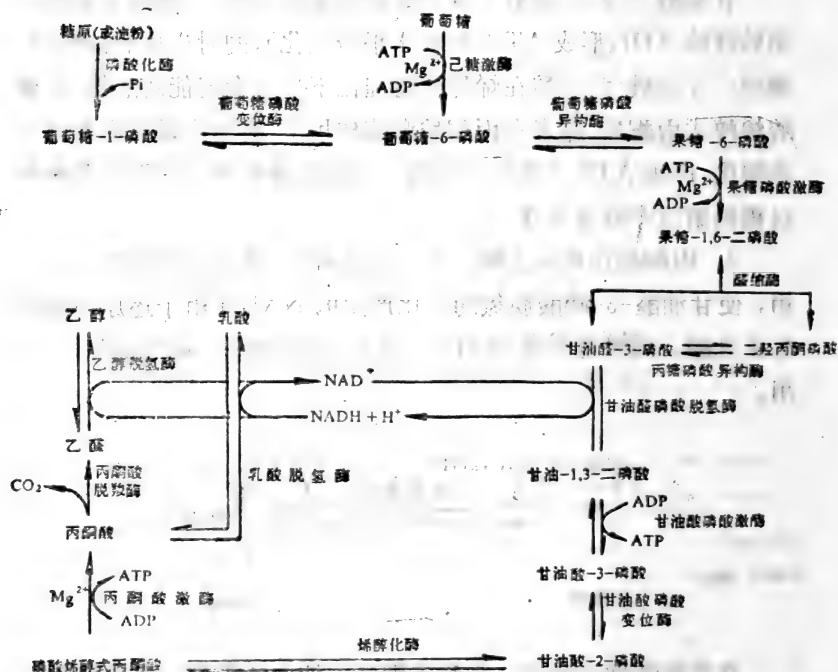


图 8-1 糖酵解与生醇发酵的途径

(三) 糖酵解的生理意义

生物体内的能量释放和消耗是以 ATP 的分解和合成来体现的。1 摩尔葡萄糖通过酵解作用可净增 2 摩尔 ATP(从糖原开始净增 3 摩尔 ATP)。有关反应列于表 8-1。

1 摩尔葡萄糖在体外分解生成 2 摩尔乳酸时, 放热 196.5 kJ。生成 1 摩尔 ATP 需捕获 30.5 kJ 能量, 所以葡萄糖在体内酵解的获能效率为 $\frac{2(-30.5)}{-196.5} \times 100\% = 31\%$

表 8-1 1 摩尔葡萄糖酵解产生 ATP 数

反 应	ATP 数的增减
葡萄糖 → 葡萄糖-6-磷酸	-1
果糖-6-磷酸 → 果糖-1,6-二磷酸	-1
2 甘油酸-1,3-二磷酸 \rightleftharpoons 2 甘油酸-3-磷酸	+2
2 磷酸烯醇式丙酮酸 → 2 丙酮酸	+2
1 摩尔葡萄糖酵解净增 ATP	+2

糖酵解过程中获能效率并不高，能够利用的只占产总热量的 31%，因此糖酵解途径是一种低效率的能量利用方式。其生理意义主要是：机体在无氧或缺氧状态下仍可获得能量进行生命活动，特别是一些组织细胞如红细胞、视网膜、睾丸、肾髓质等在有氧时也进行强烈的酵解，成熟的红细胞则完全依靠葡萄糖的酵解以获得能量；在某些情况下，糖酵解有其特殊的生理意义，如激烈运动时，肌肉组织处于相对缺氧状态，糖酵解作用加强，可以及时补充运动所需要的能量；人们从平原进入高原初期，组织细胞也往往通过增强酵解来获得能量；在某些病理状态下，因疾患所引起的机体缺氧，组织细胞也可增强酵解以获得能量等等。但酵解过度会引起乳酸积累过多而导致乳酸中毒。

三、糖的有氧分解

在氧供应充足时，大部分的糖将被彻底氧化形成 CO_2 和 H_2O ，同时释放大量的能。这一复杂的酶促反应过程可分为糖氧化为丙酮酸、丙酮酸脱羧和三羧酸循环三个阶段。

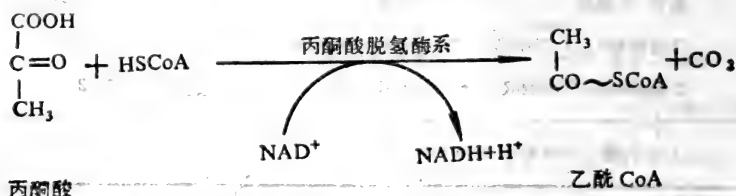
(一) 糖氧化为丙酮酸

此阶段与糖酵解基本相同，在有氧条件下，糖亦经酵解的一系列酶促反应生成丙酮酸，唯一不同的是甘油醛-3-磷酸氧化产生的 NADH 不用于还原丙酮酸，而是通过呼吸链氧化，所以比酵解作

用多生成 6 摩尔 ATP。

(二) 丙酮酸氧化脱羧

丙酮酸氧化脱羧反应由丙酮酸脱氢酶系催化, 产生乙酰 CoA 和 CO_2 。此反应是一个关键性不可逆反应。



丙酮酸脱氢酶系是由三种酶和五种辅因子组成的。三种酶是丙酮酸脱羧酶、硫辛酸乙酰基转移酶和二氢硫辛酸脱氢酶。五种辅因子是焦磷酸硫胺素(TPP)、硫辛酸、CoA、FAD 和 NAD^+ 。反应过程如图 8-2 所示。此酶系受 ATP、GTP、AMP、NADH 和乙酰 CoA 等所调节控制。

(三) 三羧酸循环

1936 年, 克雷布斯(Krebs) 在前人工作的基础上并通过自己

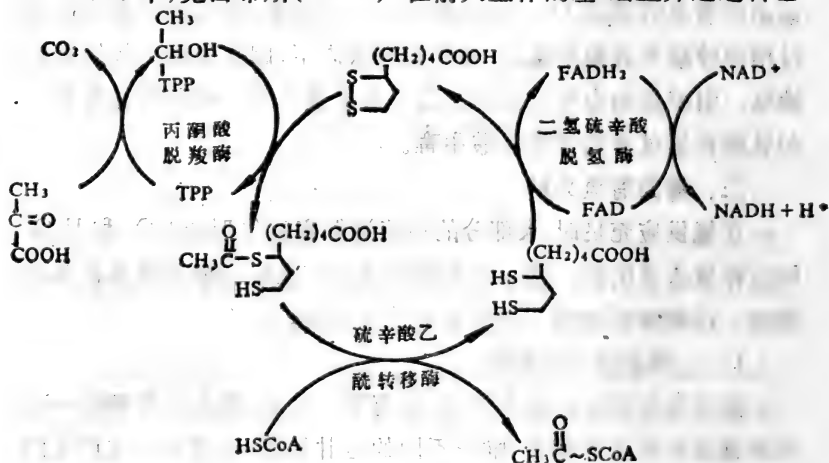


图 8-2 丙酮酸脱氢酶系

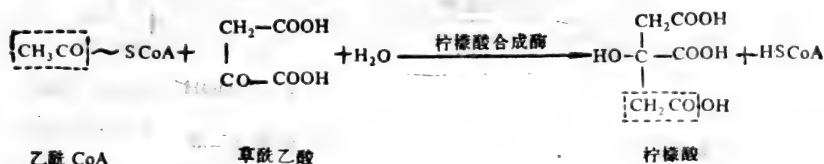
的实验,于1937年正式提出三羧酸循环的代谢理论。因循环中出现含三个羧基的化合物(如柠檬酸、顺乌头酸、异柠檬酸),故称为三羧酸循环或Krebs 循环,也称柠檬酸循环。三羧酸循环是乙酰CoA与草酰乙酸缩合生成柠檬酸,经一系列酶促反应再形成草酰乙酸的全过程。通过循环和电子传递链,乙酰CoA的乙酰基被氧化为水和二氧化碳,同时释放大量的能量。

1. 三羧酸循环的化学途径

三羧酸循环包括下列酶促反应:

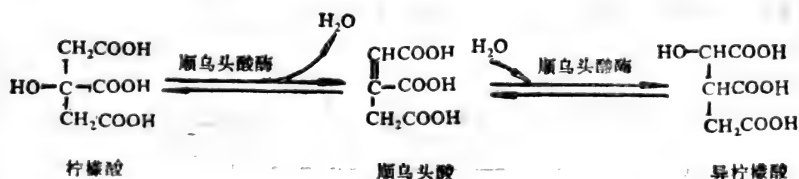
(1) 乙酰CoA与草酰乙酸缩合成柠檬酸。

乙酰CoA在柠檬酸合成酶催化下与草酰乙酸缩合成柠檬酸。此反应是三羧酸循环的重要控制点,柠檬酸合成酶的活性受ATP浓度调节。



(2) 柠檬酸异构成异柠檬酸。

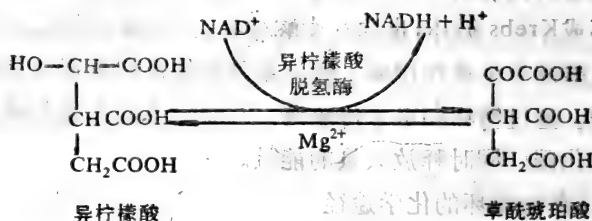
柠檬酸在顺乌头酸酶催化下转变为顺乌头酸,继而转变为异柠檬酸。



(3) 异柠檬酸氧化产生草酰琥珀酸。

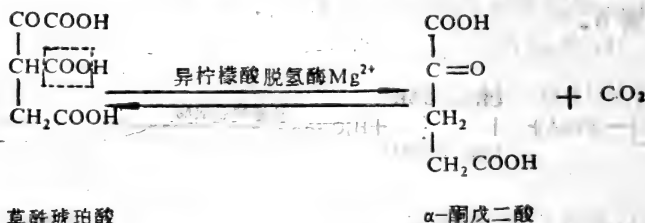
异柠檬酸在NAD⁺存在下,经异柠檬酸脱氢酶催化脱氢,形成

草酰琥珀酸。这是三羧酸循环的第二个控制点。



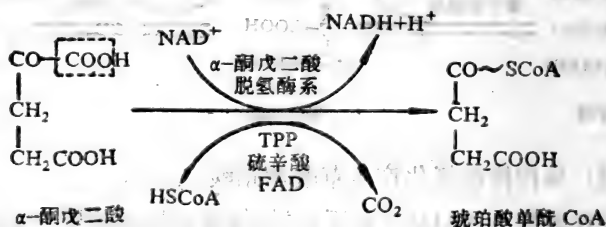
(4) 草酰琥珀酸脱羧生成 α -酮戊二酸。

在异柠檬酸脱氢酶作用下,草酰琥珀酸迅速脱羧形成 α -酮戊二酸。



(5) α -酮戊二酸氧化成琥珀酸单酰CoA。

α -酮戊二酸氧化脱羧形成琥珀酸单酰CoA, 这一反应与丙酮酸氧化脱羧相似, 需要三种酶五种辅因子组成的 α -酮戊二酸脱氢酶系催化。这是三羧酸循环的第三个控制点, 该酶系受琥珀酰CoA和NADH所抑制, 也受较高浓度ATP抑制。



在琥珀酸单酰CoA合成酶作用下,琥珀酸单酰CoA的高能硫
水解使GDP磷酸化形成GTP,同时生成琥珀酸。


$$\text{GTP} + \text{ADP} \xrightleftharpoons{\text{核苷二磷酸激酶}} \text{GDP} + \text{ATP}$$

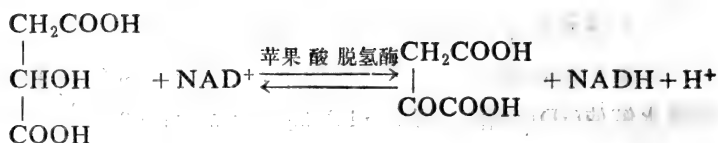
此反应由琥珀酸脱氢酶催化脱氢生成延胡索酸，脱下的氢由辅酶FAD接受生成FADH₂并经呼吸链氧化。



此反应由延胡索酸酶催化完成。



苹果酸在 NAD^+ 存在下,经苹果酸脱氢酶催化脱氢生成草酰



至此，进行了一轮三羧酸循环。重新生成的草酰乙酸又可以和另一分子乙酰CoA缩合，生成柠檬酸进入下一轮三羧酸循环。在

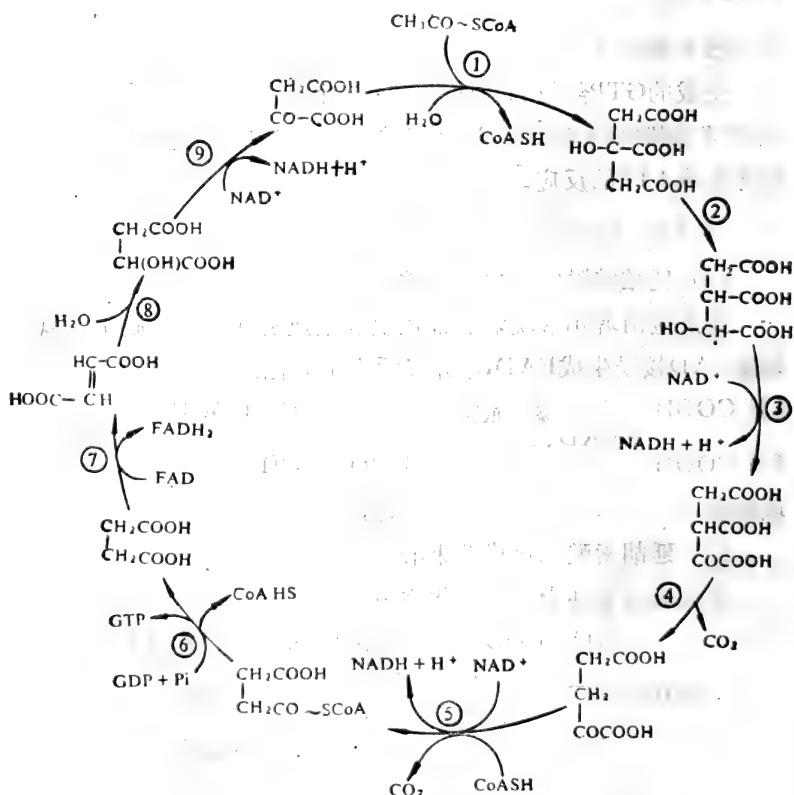


图 8-3 三羧酸循环

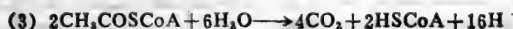
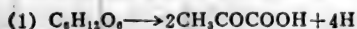
① 柠檬酸合成酶 ② 顺乌头酸酶 ③④ 异柠檬酸脱氢酶 ⑤ α-酮戊二酸脱氢酶复合体 ⑥ 琥珀酸单酰CoA合成酶 ⑦ 琥珀酸脱氢酶 ⑧ 延胡索酸酶 ⑨ L-苹果酸脱氢酶

循环中有多个反应是可逆的,但由于 α -酮戊二酸的氧化脱羧是不可逆的,所以循环是单方向进行的。

综合上述反应,三羧酸循环全过程示意于图 8-3。

2. 糖有氧分解的总反应和能量的释放

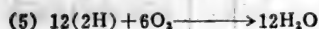
葡萄糖有氧分解反应可简写如下列方程式:



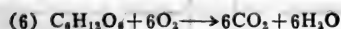
三式相加得:



脱下的 12 对氢,通过呼吸链传递,最终与氧结合生成 $12\text{H}_2\text{O}$ 。



(4) 式加(5) 式得:



$$\Delta G^{\circ'} = -2872 \text{ kJ/mol}$$

第(6) 式可表示 1 摩尔葡萄糖进行有氧分解的总反应。实验表明,糖在有氧分解过程中释放的大量能量,大部分以 ATP 的形式所捕获。1 摩尔葡萄糖进行有氧分解生成的 ATP 数,归纳于表 8-2。

从上表可知,每摩尔葡萄糖在机体进行有氧氧化时,可净产生 38(或 36) 摩尔 ATP,这和糖酵解只生成 2 摩尔 ATP 相比较,显然有氧氧化为机体提供更多可利用的能量。其能量利用率为:

$$\frac{38(-30.5)}{-2872} \times 100\% = 40\%$$

3. 三羧酸循环的生理意义

(1) 三羧酸循环的过程,不仅是高效率的产能过程,而且能量的利用率也极高,1 摩尔葡萄糖经有氧分解产生的 38 摩尔 ATP 中,有 24 摩尔来自三羧酸循环,因此它是机体获得能量的最有效方式。

表 8-2 1 摩尔葡萄糖有氧分解产生的 ATP 摩尔数

反应阶段	反 应	ATP 的消耗与合成			
		消 耗	合 成		净 得
			底物水平磷酸化	呼吸链磷酸化	
糖氧化为丙酮酸	葡萄糖→葡萄糖-6-磷酸	1			-1
	果糖-6-磷酸→果糖-1,6-二磷酸	1			-1
	甘油醛-3-磷酸→甘油酸-1,3-二磷酸			3×2	6
	甘油酸-1,3-二磷酸→甘油酸-3-磷酸		1×2		2
	磷酸烯醇式丙酮酸→烯醇式丙酮酸		1×2		2
丙酮酸氧化脱羧	丙酮酸→乙酰 CoA			3×2	6
三羧酸循环	异柠檬酸→草酰琥珀酸			3×2	6
	α -酮戊二酸→琥珀酰 CoA			3×2	6
	琥珀酰 CoA→琥珀酸		1×2		2
	琥珀酸→延胡索酸			2×2	4
	苹果酸→草酰乙酸			3×2	6
合 计		2	6	34	38

(2) 三羧酸循环的起始物乙酰CoA和中间产物 α -酮戊二酸及草酰乙酸等,不仅可从糖代谢中生成,也可由脂肪、蛋白质代谢中生成。所以三羧酸循环是这三大类有机物质在体内氧化供能的共同途径和三大物质互相转化的枢纽。

(3) 三羧酸循环所产生的各种中间产物,对其他化合物的生物合成亦有重要意义。在细胞迅速生长期间,三羧酸循环可供应多种化合物的碳骨架,以供细胞生物合成之用;植物体内的某些有机酸如柠檬果实中的柠檬酸、苹果中的苹果酸等也是三羧酸循环中形成后积累的;发酵工业上也已利用微生物的三羧酸循环途径

生产有关的有机酸,如柠檬酸和谷氨酸等。

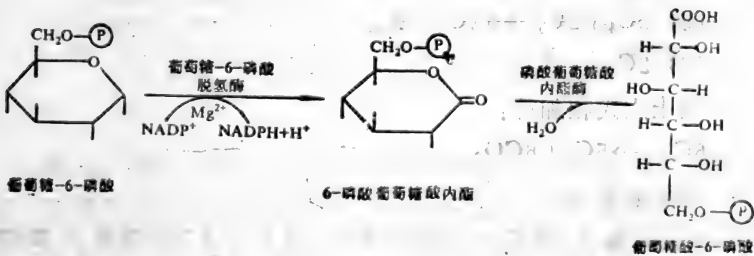
四、磷酸戊糖途径

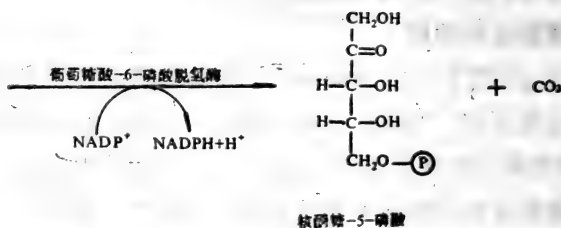
1948年,霍雷克尔(Horecker)等人发现某些组织中糖的代谢与糖酵解途径不同,甘油醛-3-磷酸脱氢酶被碘乙酸(ICH_2COOH)抑制后,酵解和三羧酸循环均停止进行,但对葡萄糖的消耗并无影响。说明糖的分解代谢除上述两种主要途径外,必定还有另外的分解途径。经研究,发现这些组织需要 NADP^+ 作脱氢酶的辅酶,葡萄糖基的第1碳原子比第6碳原子易被氧化,后来依据转羟乙醛酶和转二羟丙酮酶的作用顺序,于1954年提出了磷酸戊糖代谢途径的设想。由于磷酸戊糖这类物质在途径中占重要地位,故名为磷酸戊糖途径,又因是从葡萄糖-6-磷酸开始的,所以又有磷酸己糖支路之称。这是需要氧的代谢途径,在生物的许多组织中普遍存在,约有30—40%的葡萄糖经此途径进行氧化。

(一) 磷酸戊糖途径的化学过程

磷酸戊糖途径发生在细胞的胞液中,其基本过程可划分为氧化阶段和非氧化阶段。

1. 氧化阶段:从葡萄糖-6-磷酸开始,通过葡萄糖-6-磷酸脱氢酶催化生成葡萄糖酸-6-磷酸内酯,磷酸葡萄糖酸内酯在内酯酶作用下生成葡萄糖酸-6-磷酸,后再由葡萄糖酸-6-磷酸脱氢酶的作用,经氧化脱羧生成核酮糖-5-磷酸。

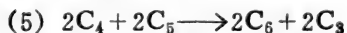
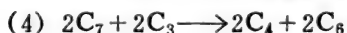
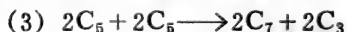




此阶段二次氧化脱下的氢均由 NADP^+ 接受生成 NADPH 。

2. 非氧化阶段：在氧化阶段中生成的磷酸戊糖，经酶催化，进行分子重排，形成六碳糖和三碳糖，2分子三碳糖可合成一分子六碳糖，此阶段的变化比较复杂。现将二个阶段的反应过程概括为图 8-4。

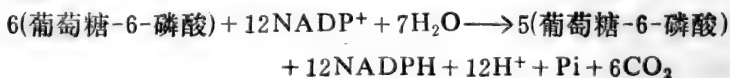
因为生成的果糖-6-磷酸易转化为葡萄糖-6-磷酸，所以可明显地看出这个代谢途径具有循环机制的性质。一分子葡萄糖要完全氧化为二氧化碳和水，需要六分子葡萄糖同时参加反应，经一次循环重新生成五分子葡萄糖-6-磷酸。其反应过程可简化如下方程式：



以上六式相加得：



总反应式为：



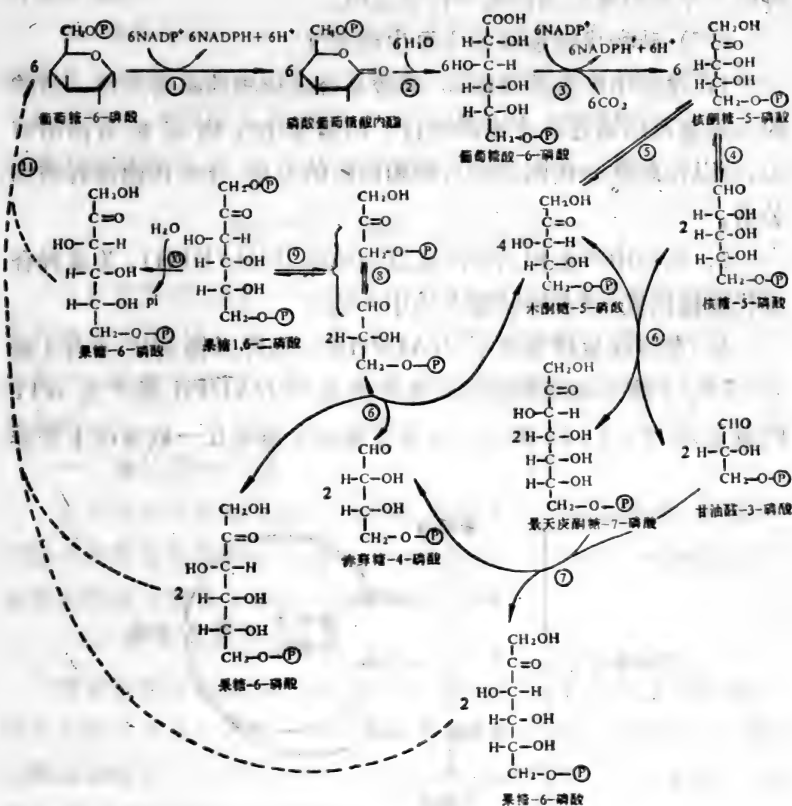


图 8-4 磷酸戊糖途径

- ① 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 ② 磷酸葡萄糖酸内酯酶 ③ 葡萄糖酸-6-磷酸脱氢酶 ④ 核糖磷酸异构酶 ⑤ 核酮糖-5-磷酸差向异构酶 ⑥ 转酮醇酶 ⑦ 转二羟丙酮基酶 ⑧ 异构酶 ⑨ 醛缩酶 ⑩ 果糖-1,6-二磷酸酯酶 ⑪ 葡萄糖-6-磷酸异构酶

磷酸戊糖途径中的氧化阶段反应过程已经得到证实，但对非氧化阶段的反应过程却持有异议。1978年以来，威廉斯(Williams)等人重复 Horecker 等人的实验，发现有多种新的中间产物和存在几种不同的酶，为此他们对非氧化阶段提出新的修正方案，同

时认为原来的途径也许是一种慢途径。

(二) 磷酸戊糖途径的主要生理意义

1. 途径中产生的核糖-5-磷酸是合成核酸的必要原料, 核酸的分解也可以通过这个途径进行。核糖类化合物与光合作用有关, 可以设想这一代谢途径与糖和核酸的分解、合成代谢都有密切关系。

2. 反应中产生相当多的还原型辅酶 II (NADPH), 为多种合成代谢提供氢(详在脂肪酸合成中介绍)。

3. 在特殊生理条件下, NADPH 亦可经呼吸链氧化, 产生 3 摩尔 ATP。1 摩尔葡萄糖完全氧化可生成 12 NADPH, 故产生 ATP 的数量为 $12 \times 3 = 36$ 摩尔。但应注意这个途径在一般情况下并非

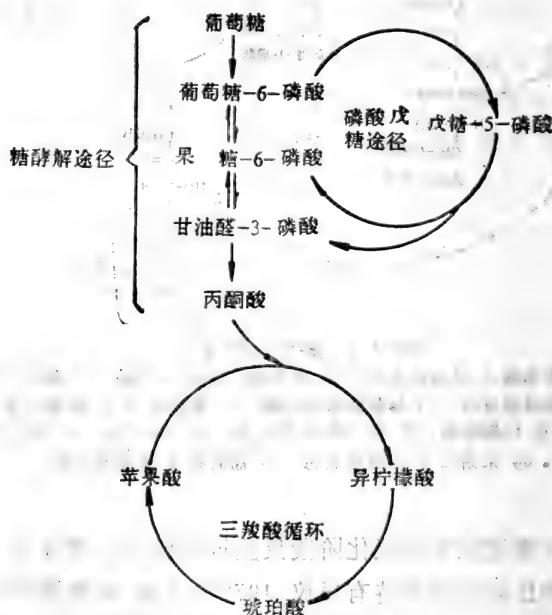


图 8-5 糖酵解、有氧氧化与磷酸戊糖途径的关系

供能的途径。

4. 磷酸戊糖途径可与糖酵解、有氧分解相互联系、甘油醛-3-磷酸是三种途径的交叉点，如果某一途径因受某种因素的影响而不能进行时，则可通过甘油醛-3-磷酸进入另一种分解途径，以保证糖的分解继续进行。三种分解途径的相互关系示图 8-5。

第二节 糖的生物合成

在自然界中，糖基本来自绿色植物和光能细菌的光合作用，将无机物 CO_2 和 H_2O 合成为糖，这方面有待植物生理学中讨论，在此重点介绍糖的异生作用，对蔗糖、淀粉和糖原的生物合成亦作简单介绍。

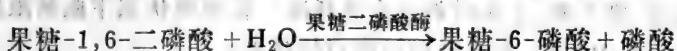
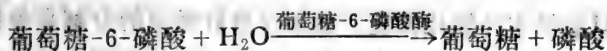
一、糖的异生作用

许多非糖物质如甘油、丙酮酸、乳酸及一些氨基酸等，能够在肝脏中转变为葡萄糖并可进一步合成糖原。这种由非糖物质转变为糖的酶促过程称为糖的异生作用。

(一) 糖异生的化学途径

糖异生的途径基本上是糖酵解的逆过程。前已述及糖酵解过程大多数反应是可逆的，只有由己糖激酶、果糖磷酸激酶、丙酮酸激酶催化的反应是不可逆的。这些不可逆的反应可通过相应的酶催化，绕过能荷屏障，实现糖的异生作用。

糖酵解中的己糖激酶和果糖磷酸激酶催化的反应，可由两个特异的磷酸酶催化水解磷酸酯键来完成。



酵解中丙酮酸激酶催化的反应，其逆反应则由两种酶促反应完成。首先由丙酮酸羧化酶催化丙酮酸羧化成草酰乙酸，然后再在磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶作用下，脱羧生成磷酸烯醇式丙酮酸。

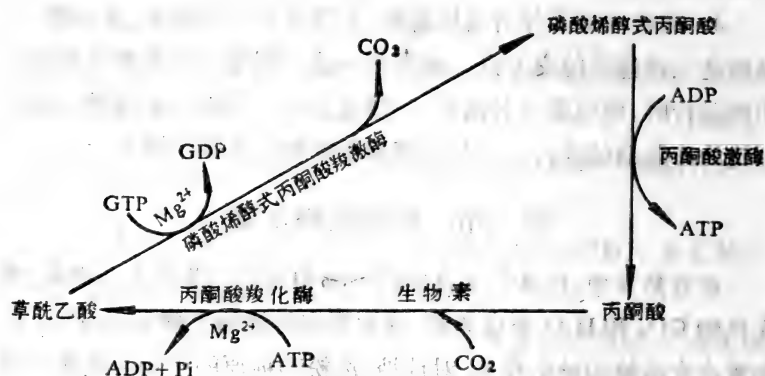


图 8-6 丙酮酸羧化支路

这两个反应称为丙酮酸羧化支路(图 8-6)。

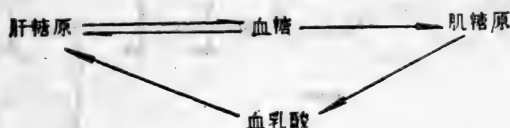
这样,三个不可逆反应都有了旁路,整个酵解途径成为可逆,从而可使非糖物质转化为糖。蛋白质和三酰甘油等营养物质在体内转化为糖,也是通过它们分解生成一定的中间产物(如生糖氨基酸、丙酮酸、草酰乙酸等),最后经糖异生途径来实现的。

(二) 糖异生作用的生理意义

1. 在饥饿状态下维持血糖浓度的相对恒定。人体正常的血糖浓度为 80—120 mg%, 即使禁食数周, 仍可保持在 70 mg% 左右, 这对于主要依赖葡萄糖供能的组织起着保证作用。人体有些组织耗糖量很大, 而贮存可供利用的糖又有限, 而且贮存糖原最多的肌肉也只能供本身氧化供能, 如果仅靠肝糖原的分解来维持血糖浓度, 则不到 12 小时就会全部耗净。在饥饿状态下血糖浓度能够维持相对恒定, 正是糖异生作用的结果。

2. 回收乳酸能量, 更新肝糖原, 防止乳酸中毒。肌肉组织中没有葡萄糖-6-磷酸酶, 葡萄糖-6-磷酸不能被水解为葡萄糖和磷酸, 故肌糖原不能直接转变为葡萄糖来补充血糖。肌糖原酵解生

成乳酸后,必须经过血循环输送至肝脏,再异生为葡萄糖以补充血糖。



剧烈运动时,肌糖原酵解生成大量的乳酸,不能从尿中排出也不能持续积累于血液中,而必须在肝脏中经糖异生合成为肝糖原。所以糖异生作用这一功能对回收乳酸能量、更新肝糖原和防止乳酸中毒都具有一定意义。

3. 协助氨基酸代谢。实验证明,进食蛋白质后,肝糖原含量增加;禁食晚期,由于组织蛋白的分解,血浆氨基酸增加,糖的异生作用增强,在这种条件下氨基酸转变为糖可能是氨基酸代谢的主要途径。氨基酸在肝脏中生糖速度最快也证明了这一点。

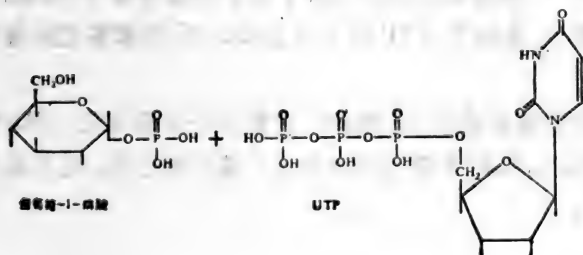
二、二糖的生物合成

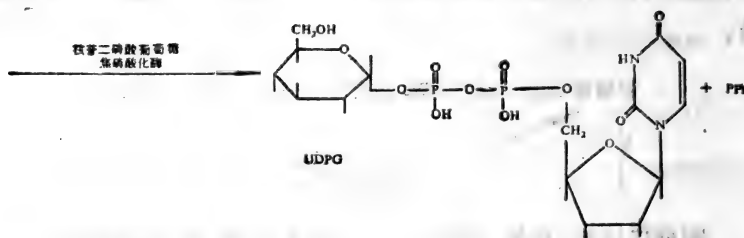
植物界中的二糖以蔗糖分布最广,它不仅是光合作用的主要产物,而且也是糖类在植物体中运输的主要形式。蔗糖在一些高等植物中含量丰富。

蔗糖在高等植物中的合成途径主要有两种:

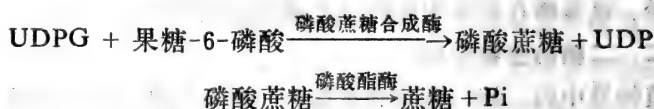
1. 蔗糖合成酶催化途径。UDPG 与果糖在蔗糖合成酶催化下,由 UDPG 提供活性葡萄糖基合成蔗糖。

UDPG 是尿苷二磷酸葡萄糖的缩写,是由葡萄糖-1-磷酸在 UTP 存在下经尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶作用下生成的。





2. 磷酸蔗糖合成酶催化途径。由 UDPG 提供活性葡萄糖基,但果糖不是游离果糖而是果糖-6-磷酸。在磷酸蔗糖合成酶催化下,先合成磷酸蔗糖,然后再经磷酸酯酶作用,脱去磷酸形成蔗糖。



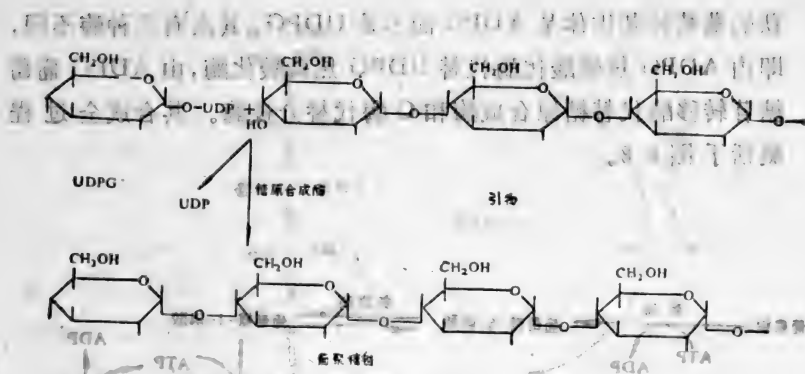
根据磷酸蔗糖合成酶的活性较大以及磷酸酯酶存量多的事实,一般认为第二种途径是合成蔗糖的主要途径。

三、糖原的生物合成

由葡萄糖合成糖原的过程称为糖原的生物合成,肝脏和肌肉是糖原合成的主要场所。合成的过程如下:

1. 葡萄糖经磷酸化形成葡萄糖-6-磷酸。
2. 葡萄糖-6-磷酸在变位酶作用下转变为葡萄糖-1-磷酸。
3. 葡萄糖-1-磷酸在 UTP 存在下经 UDPG 焦磷酸化酶催化形成 UDPG。

4. 在有低聚糖或糖原为引物时,由糖原合成酶催化,UDPG 中的葡萄糖基以 1,4-糖苷键与引物非还原端残基连接,延长糖原分子的多糖链。



5. 分枝酶将部分 α -1,4-糖苷键转变为 α -1,6-糖苷键,使直链葡聚糖形成支链糖原。

糖原合成的全过程概括于图 8-7。

四、淀粉的生物合成

淀粉的合成与糖原的合成过程相似,只是在许多植物中,较活

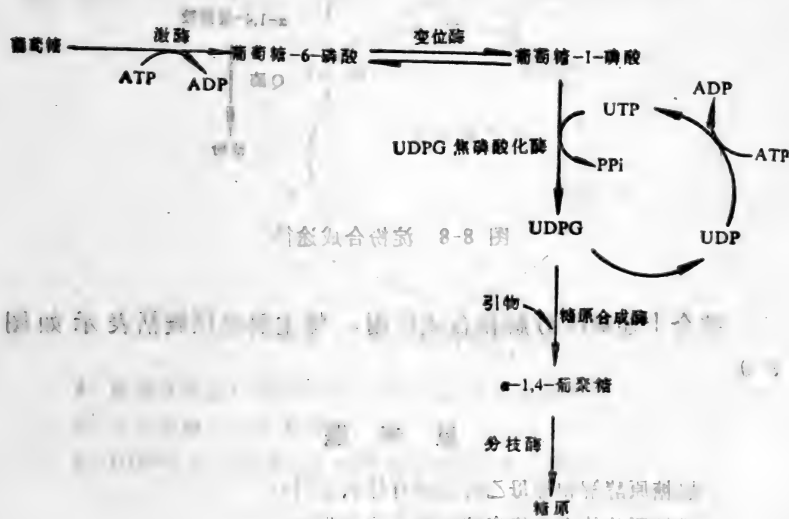


图 8-7 糖原合成途径

跃的葡萄糖基供体是 ADPG 而不是 UDPG, 其次有三种酶不同, 即由 ADPG 焦磷酸化酶代替 UDPG 焦磷酸化酶, 由 ADPG 葡萄糖苷转移酶代替糖原合成酶和 Q 酶代替分枝酶。其合成全过程概括于图 8-8。

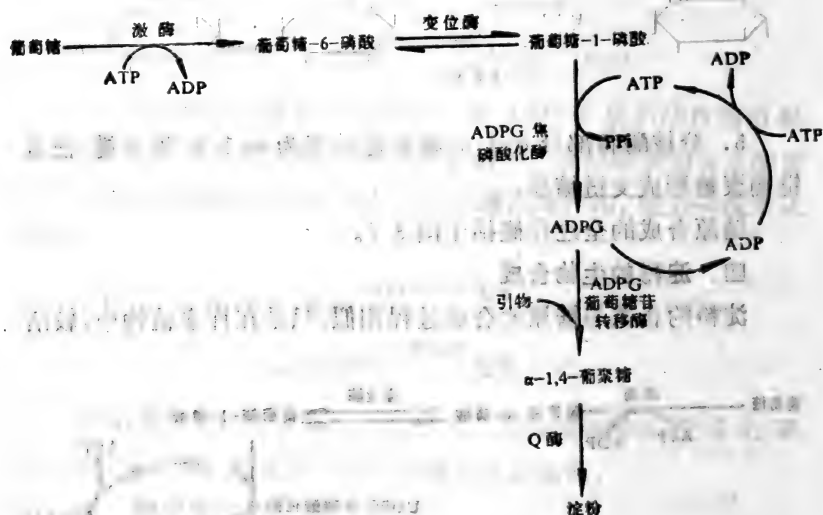


图 8-8 淀粉合成途径

综合上述糖的分解和合成代谢, 将主要途径概括表示如图 8-9。

思考题

1. 肌糖原酵解和酵母乙醇发酵有什么异同?
2. 肌糖原为什么不能直接分解成为葡萄糖?
3. 三羧酸循环有何特点? 其生物学意义是什么?

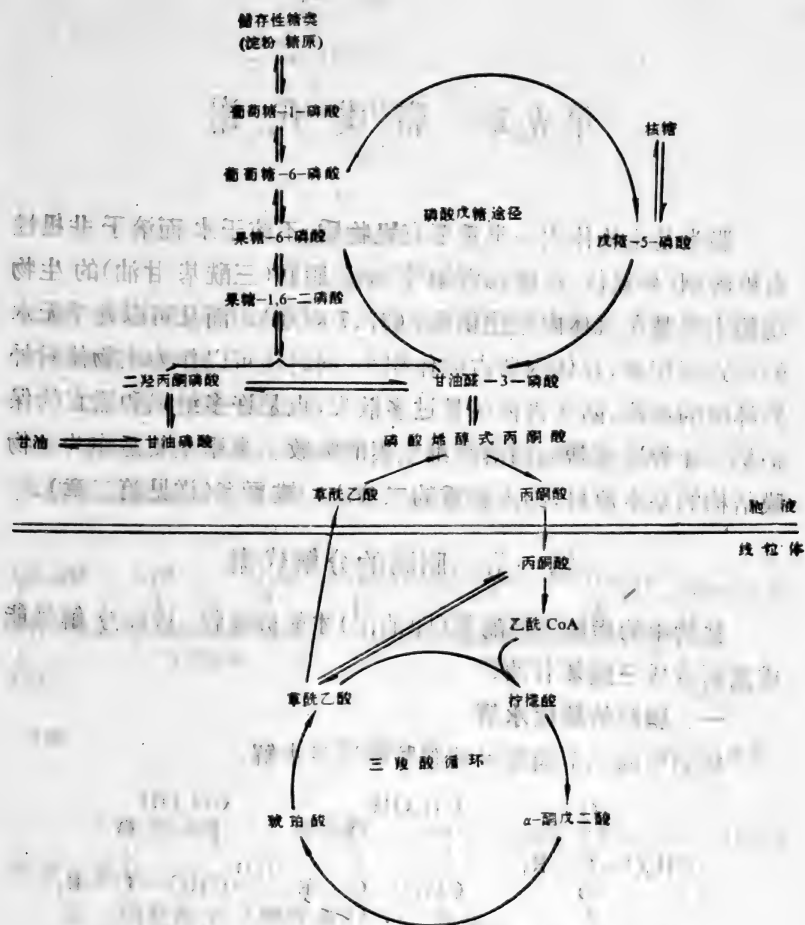


图 8-9 糖代谢的主要途径

4. 磷酸戊糖途径有何特点？有什么生物学意义？
5. 什么是糖原异生作用？
6. UDPG 如何生成？在糖原合成中如何起作用？

第九章 脂类代谢

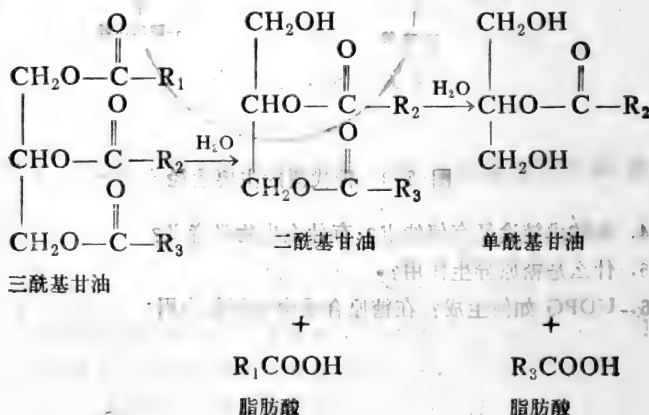
脂类是生物体内一类重要有机物质,不溶于水而溶于非极性有机溶剂(如氯仿、乙醚和丙酮等)中。脂肪(三酰基甘油)的生物功能主要是在机体内氧化供能, (37.7 kJ/g), 而且可以几乎无水的形式而积聚,在体内所占的体积小。同时还可以作为生物体对外界环境的屏障,防止机体热量过多散失,也是许多组织和器官的保护层,此外还能帮助脂溶性维生素的吸收。类脂主要是作为生物膜结构的基本原料,约占膜重的二分之一或更多(详见第二章)。

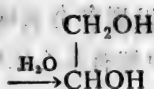
第一节 脂肪的分解代谢

食物中的脂肪需经酶解(即消化)才能被吸收,进而分解供能或重新合成三酰基甘油。

一、脂肪的酶促水解

脂肪中的三个酯键可被脂肪酶逐步水解。





甘油

+ 脂肪酸

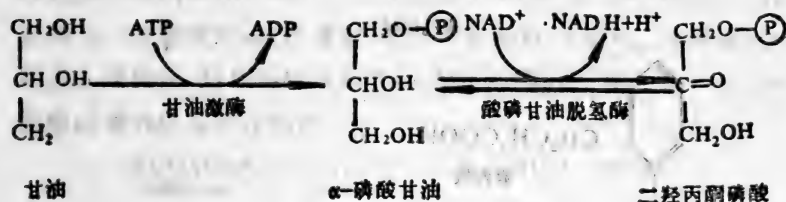


脂肪酸

水解产生的甘油和脂肪酸分别在组织内进行氧化，产生二氧化碳和水并释放能量。

二、甘油的分解代谢

甘油经甘油激酶的作用，与 ATP 生成 α -磷酸甘油，后者再经磷酸甘油脱氢酶作用，变成二羟丙酮磷酸。



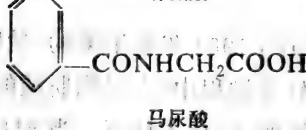
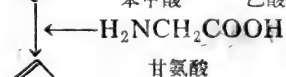
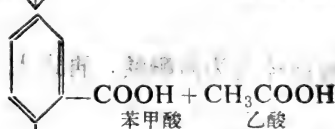
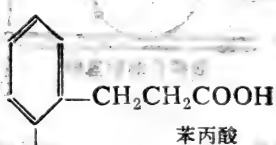
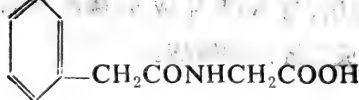
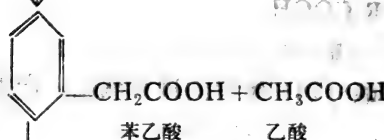
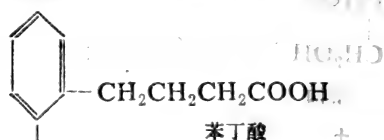
二羟丙酮磷酸可循糖酵解途径变为丙酮酸，再进入三羧酸循环完全氧化。

三、脂肪酸的分解代谢—— β -氧化

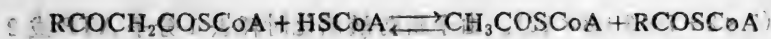
1. 脂肪酸的 β -氧化学说

β -氧化学说是努普(Knoop)于1904年提出来的，他以苯环标记脂肪酸并追踪其在狗体内的转变过程中，发现脂肪酸的降解，是将碳原子一对一对地从脂肪酸链的 β -位上切下。当时已经知道动物体内缺乏降解苯环的能力，努普用五种含碳数不同的苯脂酸(苯甲酸、苯乙酸、苯丙酸、苯丁酸和苯戊酸)喂狗，然后收集其尿

液并分析尿中带苯环的物质，结果发现食奇数碳苯脂酸者尿中都有马尿酸，而食偶数碳苯脂酸者尿中都有苯乙尿酸，其反应如下，



实验表明，如果每次氧化只失去一个碳原子，尿液中含苯环的物质应全部都是马尿酸，但事实并非如此。因此努普认为每次氧



β -酮脂酰 CoA 乙酰 CoA 短 2 个碳原子的脂酰 CoA

短 2 个碳原子的脂酰 CoA, 又经脱氢、加水、再脱氢及硫解等反应, 生成乙酰 CoA 和碳链更短的脂酰 CoA。如此重复进行, 一分子脂肪酸终于全部变成乙酰 CoA。乙酰 CoA 可以进入三羧酸循环彻底氧化, 也可以参加其他合成反应。

综合上述 β -氧化的全过程, 概括如图 9-2。

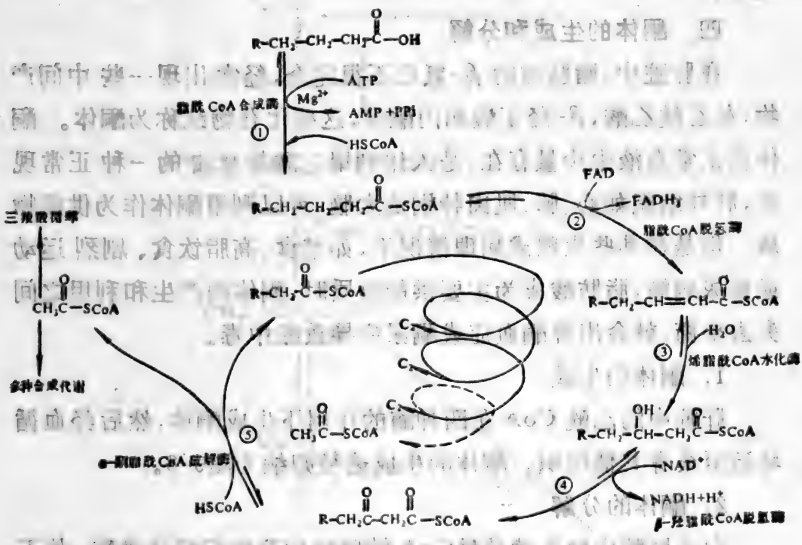


图 9-2 脂肪酸的 β -氧化

3. β -氧化过程中的能量转化

以软脂酸(C_{16} 脂肪酸)为例, 它完全氧化为乙酰 CoA 共经过 7 次 β -氧化, 生成 8 分子乙酰 CoA、7 分子 $FADH_2$ 和 7 分子 $NADH$ 。氧化每分子的 $FADH_2$ 生成 2 分子 ATP, 氧化每分子 $NADH$ 生成 3 分子 ATP, 每分子乙酰 CoA 完全氧化可产生 12 分子 ATP, 因此 1 分子软脂酸彻底氧化为 CO_2 和 H_2O 时, 在理论上可合成 131 分子 ATP

($7 \times 2 + 7 \times 3 + 8 \times 12$)。由于脂肪酸活化时耗去 1 分子 ATP 或 2 个高能磷酸键,所以实际可净生成 $131 - 1 = 130$ 分子 ATP 或 $131 - 2 = 129$ 个高能磷酸键。

1 摩尔软脂酸(256g)完全氧化成 CO_2 和 H_2O 时,如用热量计直接测定,释放出的能量为 9781 kJ。130 摩尔 ATP 所存的能量为 $130 \times 30.5 = 3965 \text{ kJ}$ 。由此可知,脂肪酸在体内氧化所释放的总热能中有 40% ($3965 \div 9781 \times 100\%$) 以高能磷酸键的形式贮存起来。

四、酮体的生成和分解

在肝脏中,脂肪酸的 β -氧化不很完全,经常出现一些中间产物,如乙酰乙酸, β -羟丁酸和丙酮等,这些化合物统称为酮体。酮体在正常血液中少量存在,是人体利用三酰基甘油的一种正常现象,肝外组织如心、肺、肌肉特别是大脑,可以利用酮体作为供能物质。但是在某些生理或病理情况下,如禁食、高脂饮食、剧烈运动或糖尿病等,脂肪酸成为主要供能物质时,酮体的产生和利用之间失去平衡,就会出现酮血症或酮尿症导致酸中毒。

1. 酮体的生成

肝脏中的乙酰 CoA 在四种酶的作用下生成酮体,然后经血循环运至全身其他组织。酮体的生成途径归纳为图9-3。

2. 酮体的分解

由于肝脏中缺乏琥珀酰 CoA 转硫酶和乙酰乙酸硫激酶,故不能分解和利用酮体。但肝外组织却能氧化分解酮体。肝脏中生成的 β -羟丁酸和乙酰乙酸通过血循环送至肝外组织,经琥珀酰 CoA 转硫酶或乙酰乙酸硫激酶的作用,生成乙酰乙酰 CoA,然后再在乙酰乙酰 CoA 硫解酶作用下,和 1 分子 HSCoA 作用形成 2 分子乙酰 CoA。其反应过程如图9-4。

生成的乙酰 CoA 进入三羧酸循环彻底氧化。人体利用丙酮的能力很弱,大部分丙酮由肺和肾排出体外,少量丙酮在体内可转

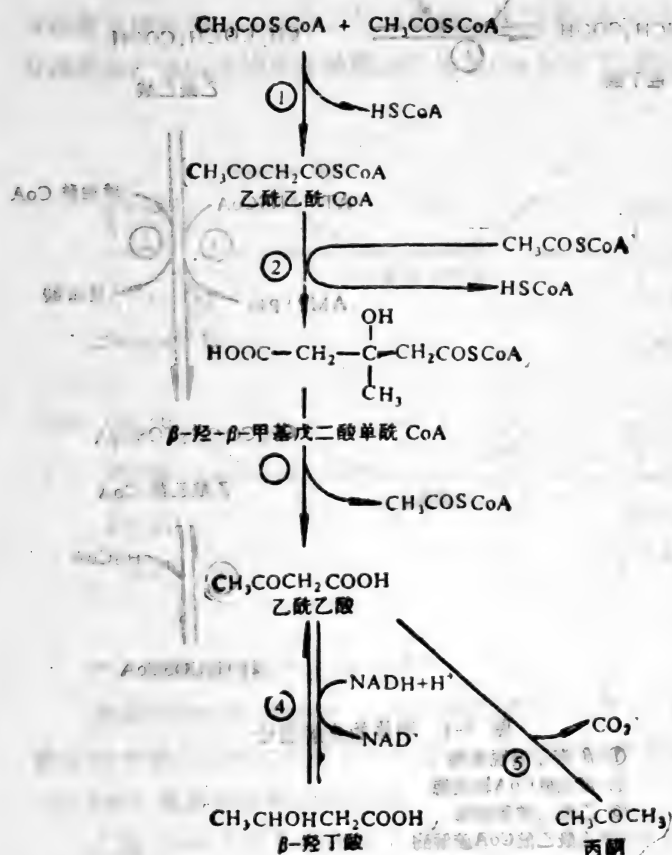


图 9-3 酮体的生成途径

- ① 乙酰CoA乙酰基转移酶
- ② β-羟-β-甲基戊二酸单酰CoA合成酶
- ③ β-羟-β-甲基戊二酸单酰CoA裂解酶
- ④ β-羟丁酸脱氢酶
- ⑤ 自动进行

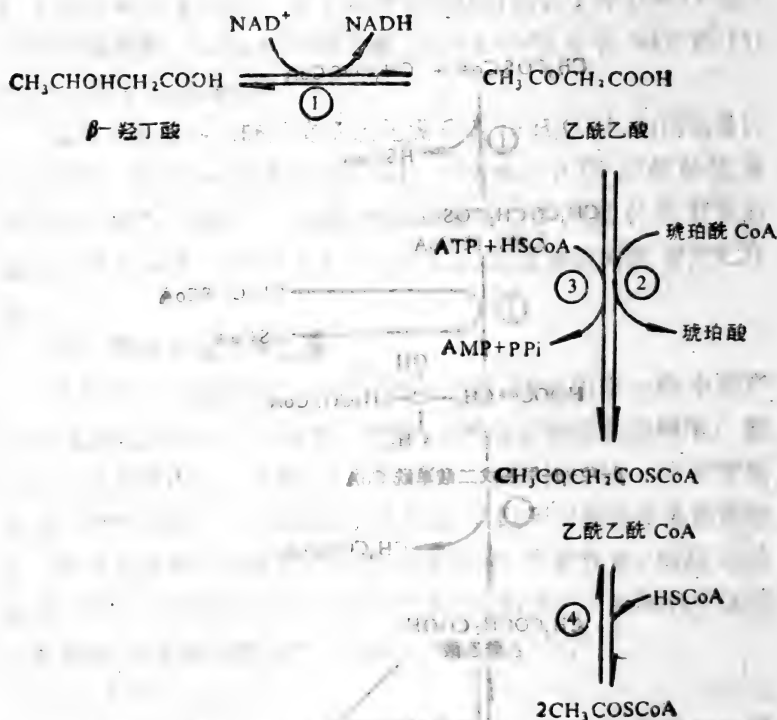


图 9-4 酮体的分解途径

- ① β -羟丁酸脱氢酶
- ② 琥珀酰 CoA 转硫酶
- ③ 乙酰乙酰硫激酶
- ④ 乙酰乙酰 CoA 硫解酶

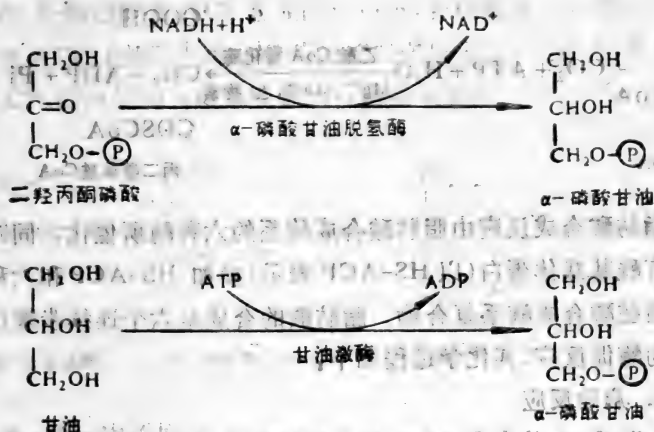
变为丙酮酸进入糖代谢途径,或者转变成甲酰基和乙酰基,供蛋氨酸或胆碱的生物合成之用。

第二节 三酰基甘油的生物合成

肝脏和脂肪组织是合成三酰基甘油最活跃的组织,高等动、植物中三酰基甘油的合成,需要 α -磷酸甘油和脂酰 CoA 为前体。

一、 α -磷酸甘油的生物合成

α -磷酸甘油主要由糖酵解中产生的二羟丙酮磷酸在 α -磷酸甘油脱氢酶作用下,以 NADH 为辅酶还原而成;也可以由三酰基甘油降解产生的甘油在甘油激酶催化下,与 ATP 作用而生成。



二、饱和脂肪酸的生物合成

饱和脂肪酸的生物合成过程与脂肪酸的 β -氧化过程不同,脂肪酸合成的全部过程发生在胞液中,由脂肪酸合成酶系催化。

(一) 饱和脂肪酸合成途径

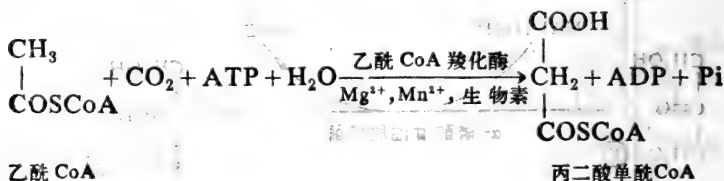
乙酰 CoA 不仅是脂肪酸 β -氧化的终产物,也是脂肪酸生物合成的原料。

在线粒体中生成的乙酰 CoA 不能透过内膜进入胞液,其乙酰基是通过其他化学形式转运进入胞液的。线粒体内的乙酰 CoA 与草酰乙酸形成柠檬酸可以透过线粒体内膜,在胞液中,柠檬酸可被柠檬酸裂解酶分解而再生乙酰 CoA。

柠檬酸 + ATP + HSCoA \longrightarrow 乙酰 CoA + 草酰乙酸 + ADP + Pi

此外,乙酰 CoA 的乙酰基也可以通过酰基载体(肉毒碱)转移到胞液中。

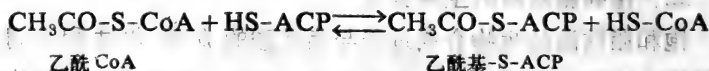
脂肪酸的合成开始时,并非由 2 分子乙酰 CoA 进行缩合,而是 1 分子乙酰 CoA 与 1 分子丙二酸单酰 CoA 进行缩合。丙二酸单酰 CoA 由乙酰 CoA 羧化而成。



脂肪酸合成反应由脂肪酸合成酶系的六种酶所催化,同时还必须有酰基载体蛋白(以 HS-ACP 表示)参加,HS-ACP 和六种酶组成脂肪酸合成酶系复合物。脂肪酸的合成是六个连续步骤反复循环的酶促反应,其化学过程如下:

1. 启动反应

乙酰 CoA 首先在 ACP-酰基转移酶作用下,生成乙酰基-S-ACP。



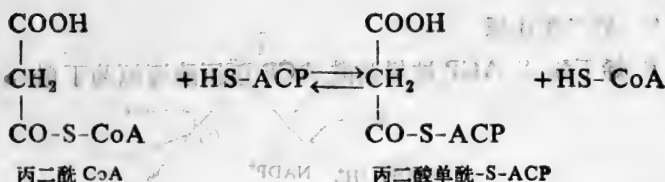
乙酰基-S-ACP 中的乙酰基并不停留在 ACP 上,而是转移到 β -酮脂酰基-ACP 合成酶上(该酶以 HS-合成酶表示)。



通过这个反应,脂肪酸合成酶系复合物便被启动,接着进行一系列的合成反应。

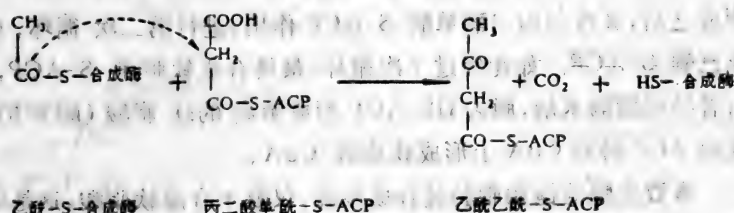
2. 丙二酸单酰基的转移

丙二酸单酰 CoA 在 ACP-丙二酸单酰转移酶催化下,生成丙二酸单酰-S-ACP。



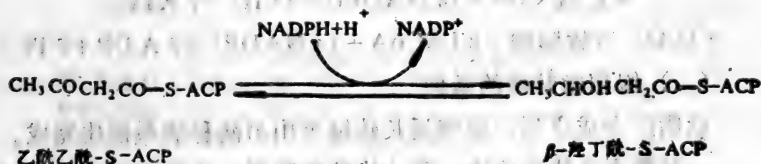
3. 缩合反应

在 β -酮脂酰基 ACP 合成酶作用下, 合成酶分子上的乙酰基转移到 ACP 上的丙二酸单酰基的第二碳原子上, 生成乙酰乙酰-S-ACP, 同时使丙二酸单酰基的自由羧基脱羧。



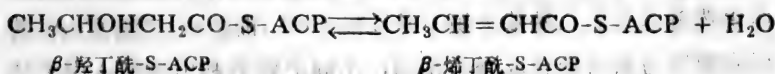
4. 第一次还原

乙酰乙酰-S-ACP 由 β -酮脂酰-ACP 还原酶催化, 被 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 还原生成 β -羟丁酰-S-ACP。



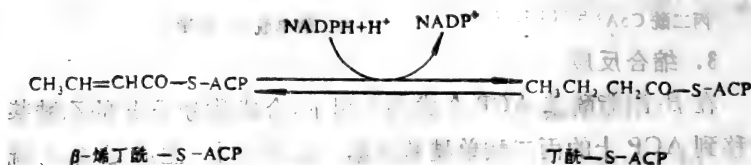
5. 脱水反应

β -羟丁酰-S-ACP 通过 β -羟脂酰-ACP-脱水酶作用, 脱水生成 β -烯丁酰-S-ACP。



6. 第二次还原

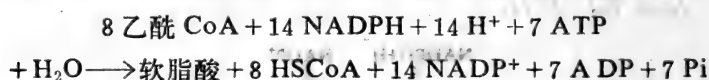
β -烯丁酰-S-ACP 被烯脂酰 ACP 还原酶还原为丁酰-S-ACP。



丁酰-S-ACP 是脂肪酸合成的第一次循环产物，丁酰-S-ACP 形成之后，又再与丙二酸单酰-S-ACP 作用，进行第二次循环，生成己酰-S-ACP。如此经过 7 次循环，最终合成软脂酰-S-ACP，后者经硫酯酶水解，脱去 HS-ACP 形成游离的软脂酸（图 9-5），或由 ACP 转到 CoA 上形成软脂酰-CoA。

多数生物的饱和脂肪酸合成步骤，仅限于合成软脂酸，这是因为一方面 β -酮脂酰-S-ACP 合成酶接受 14 碳脂酰基的活力强，而不能接受 16 碳脂酰基；另一方面软脂酰 CoA 对脂肪酸的合成具有反馈抑制作用。

由乙酰 CoA 开始的软脂酸生物合成，其总反应式表示如下：



(二) 饱和脂肪酸的延伸

软脂酸合成之后，继续延长碳链可由另两种酶系催化完成。

一种酶系在线粒体内，称为线粒体酶系。软脂酸的碳链通过线粒体酶系催化，在其羧基末端连续加上乙酰 CoA，酶促反应与脂肪酸 β -氧化时的酶促反应相似，把碳链延长至 24 碳。

另一种酶系在内质网内，称内质网（或微粒体）酶系。此酶系催化碳链延长的乙酰基来源不是乙酰 CoA，而是丙二酰 CoA，其反应顺序与脂肪酸合成酶系相同，不同之处是利用辅酶 A 而不是

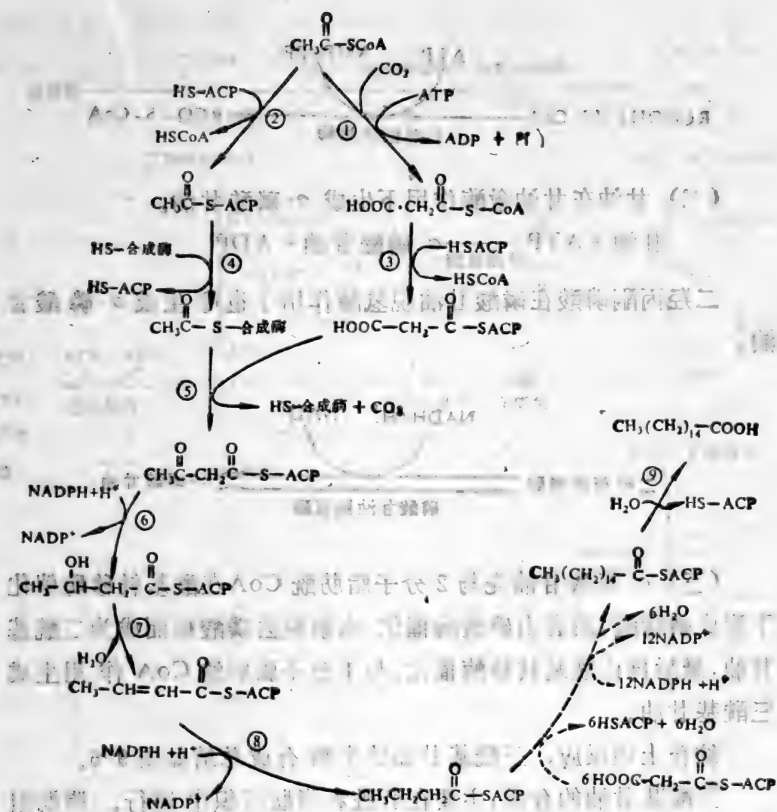


图 9-5 软脂酸生物合成示意图

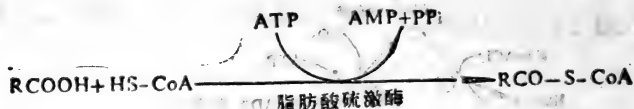
① 乙酰 CoA 羧化酶 ② ACP-酰基转移酶 ③ ACP-丙二酸单酰转移酶 ④⑤ β-酮脂酰-ACP 合成酶 (HS-合成酶) ⑥ β-酮脂酰-ACP 还原酶 ⑦ β-羟脂酰-ACP 脱水酶 ⑧ β-烯脂酰-ACP 还原酶 ⑨ 硫脂酶

HS-ACP 作为酰基载体。

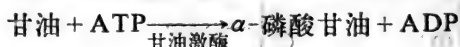
三、三酰基甘油的生物合成

三酰基甘油由脂肪酰 CoA 和 α-磷酸甘油或二羟丙酮磷酸作用生成。过程如下：

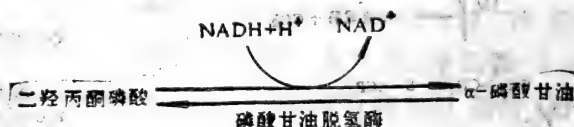
(一) 脂肪酸由脂肪酸硫激酶催化生成脂肪酰 CoA。



(二) 甘油在甘油激酶作用下生成 α -磷酸甘油。



二羟丙酮磷酸在磷酸甘油脱氢酶作用下也可生成 α -磷酸甘油。



(三) α -磷酸甘油先与 2 分子脂肪酰 CoA 在酰基转移酶催化下形成磷脂酸，后者由磷酸酶催化，水解脱去磷酸根而成为二酰基甘油，最后再由酰基转移酶催化，与 1 分子脂肪酰 CoA 作用生成三酰基甘油。

综合上述反应，三酰基甘油的生物合成总结如图 9-6。

三酰基甘油的合成，主要在肝脏和脂肪组织中进行。脂肪组织中合成的三酰基甘油贮存在该组织的细胞内，肝组织合成的则分泌入血浆变为脂蛋白，经血循环运到脂肪组织，在脂蛋白脂肪酶作用下水解出游离脂肪酸，再由脂肪组织吸收，最后重新酯化为三酰基甘油，在脂肪组织中沉积起来。

第三节 磷 脂 代 谢

磷脂(磷酸甘油酯)是生物膜的基本成分，它们在生物体内经磷脂酶作用被水解为甘油、脂肪酸、磷酸和各种氨基醇(如胆碱、胆胺和丝氨酸等)。甘油经转变为二羟丙酮磷酸，参加糖代谢。脂肪

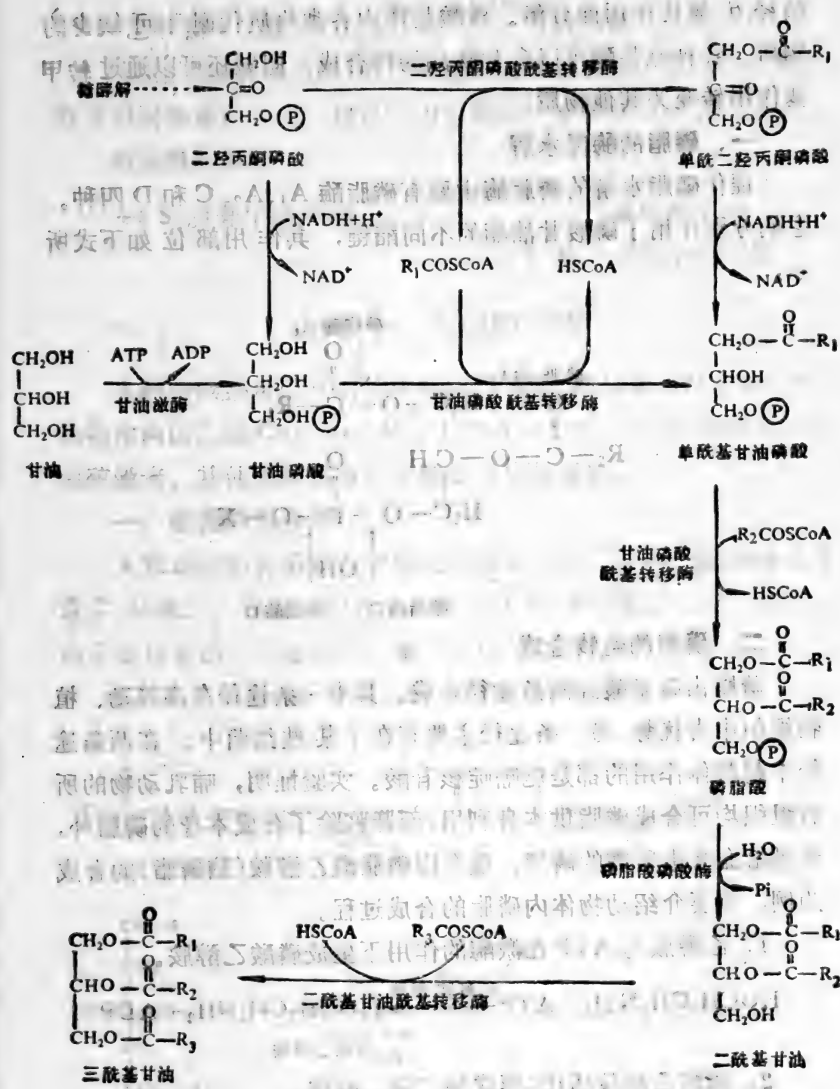
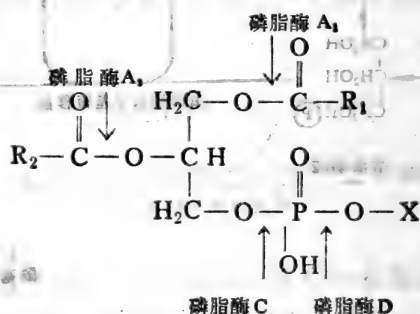


图 9-6 三酰甘油合成反应

酸经 β -氧化作用而分解。磷酸是体内各类物质代谢不可缺少的物质。各种氨基醇可以参加磷脂的再合成，胆碱还可以通过转甲基作用转变为其他物质。

一、磷脂的酶促水解

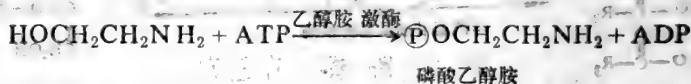
催化磷脂水解的磷脂酶主要有磷脂酶 A_1 、 A_2 、C 和 D 四种。它们分别作用于磷酸甘油酯的不同酯键，其作用部位如下式所示。



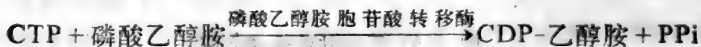
二、磷脂的生物合成

磷脂由磷脂酸经两条途径合成。其中一条途径在高等动、植物组织中占优势，另一条途径主要存在于某些细菌中。在两条途径中起载体作用的都是胞嘧啶核苷酸。实验证明，哺乳动物的所有组织均可合成磷脂供本身利用，而肝脏除了合成本身的磷脂外，还供给血浆中所需的磷脂。现在以磷脂酰乙醇胺(脑磷脂)的合成为例，简要介绍动物体内磷脂的合成过程。

1. 乙醇胺与 ATP 在激酶的作用下生成磷酸乙醇胺。



2. 磷酸乙醇胺活化，形成胞二磷乙醇胺。



3. CDP-乙醇胺与二酰基甘油作用生成磷脂酰乙醇胺。

CDP-乙醇胺 + 二酰基甘油 $\xrightarrow{\text{磷酸乙醇胺转移酶}}$ 磷脂酰乙醇胺 + CMP

磷脂酰胆碱(卵磷脂)的合成可以由胆碱开始, 经与磷脂酰乙醇胺相同的途径合成, 也可以由磷脂酰乙醇胺经甲基化生成。

磷脂酰乙醇胺

+ 3 S-腺苷甲硫氨酸 $\xrightarrow{\text{磷脂酰乙醇胺甲基转移酶}}$ 磷脂酰胆碱
+ 3 S-腺苷同型半胱氨酸

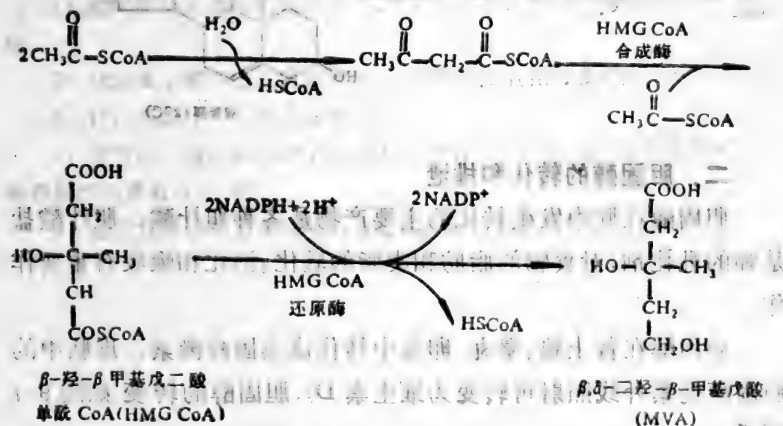
第四节 胆固醇代谢

人和动物都可以从食物中获得胆固醇。同位素示踪实验证明, 动物体内以乙酰 CoA 为原料可以合成胆固醇。而胆固醇又是类固醇激素、其他固醇以及胆汁酸盐合成的原料。

一、胆固醇的合成

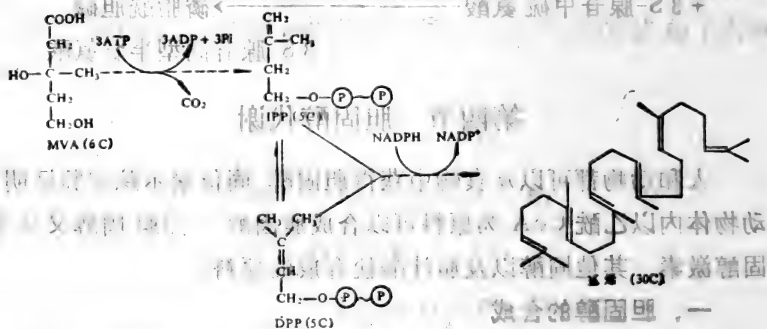
人和动物的各组织几乎都能合成胆固醇, 其中肝脏的合成量最多, 肠次之。胆固醇的合成过程有近 30 步的酶促反应, 其中有些步骤目前还未完全阐明。整个合成过程可分为三个阶段。

1. β, δ -二羟- β -甲基戊酸(MVA)的合成:

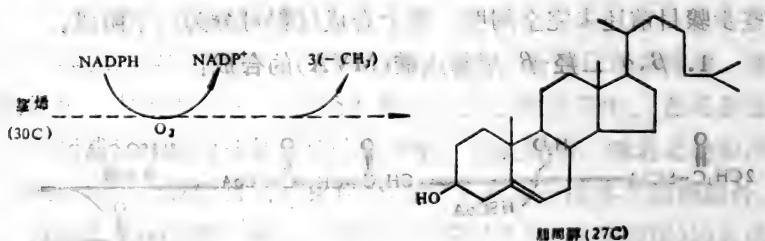


2. MVA 转变为鲨烯:

MVA 在 ATP 供能条件下活化、脱羧生成异戊烯醇焦磷酸酯 (IPP) 和二甲基丙烯醇焦磷酸酯 (DPP), 这二种中间产物再相互缩合, 延长碳链, 生成 30 碳的鲨烯。



3. 从鲨烯合成胆固醇:



二、胆固醇的转化和排泄

胆固醇在肝中发生转化的主要产物是各种胆汁酸, 胆汁酸盐是强的乳化剂, 对食物的脂肪和类脂的乳化、消化和吸收有重要作用。

胆固醇在肾上腺、睾丸、卵巢中转化成类固醇激素。皮肤中的胆固醇受紫外线照射可转变为维生素 D₃, 胆固醇的转变如图 9-7 所示。

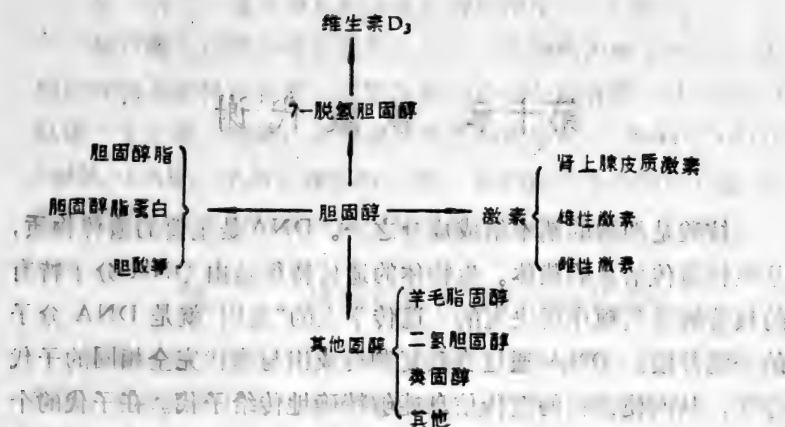


图 9-7 胆固醇的转变

胆固醇从肝脏随胆汁或通过肠粘膜进入肠道后,大部分重行吸收,小量排出体外。小部分胆固醇被肠道细菌还原成粪固醇随粪排出,但粪固醇不是动物机体本身的代谢最终产物。

思考题

1. 如何借助动物实验论证 β -氧化的存在?说明脂肪酸 β -氧化的过程。

2. 试计算1摩尔三豆蔻酰(C_{14})甘油酯彻底氧化时各产生多少ATP?

3. 什么叫酮体?怎样生成和利用?

4. 说明丙二酸单酰CoA在脂肪酸生物合成中的作用。为什么有机体内的脂肪酸的碳数皆为偶数?

5. 进食过量的糖类食物可以通过哪些环节促进脂肪合成?

第十章 核酸代谢

核酸是细胞的基本组成成分之一。DNA 是主要的遗传物质，是生物遗传信息的载体。生物体的遗传特征是由 DNA 分子特有的核苷酸排列顺序所决定的。遗传学上的“基因”就是 DNA 分子的一定片段。DNA 通过自我复制合成出与亲代完全相同的子代分子，从而使亲代的遗传信息能够精确地传给子代。在子代的个体发育过程中，遗传信息的表达则有赖于通过“转录”把 DNA 上的遗传信息传递给 RNA，然后通过“翻译”在 RNA 指导下合成特异的蛋白质，以执行各种生物功能。由此，子代表现出与亲代相同的遗传性状。1958 年克里克 (Crick) 把此过程称为分子遗传学的中心法则。

在某些病毒和类病毒中，RNA 是遗传物质。它们在宿主细胞内既可指导合成病毒蛋白质，又可受 RNA 复制酶的作用自我复制。某些致癌 RNA 病毒还可以在 RNA 指导下由逆转录酶催化合成 DNA 分子。

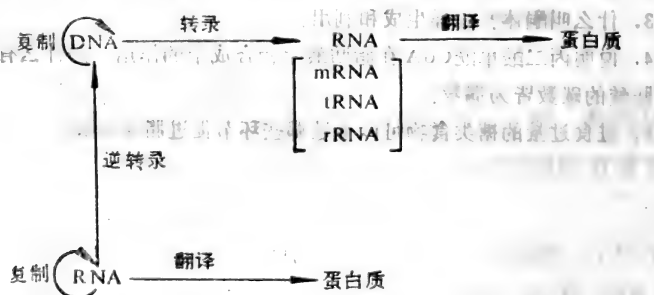


图 10-1 中心法则示意图

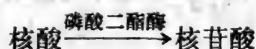
综上所述,遗传信息的传递路线可用图 10-1 表示。

核苷酸是核酸生物合成的前体,在生物体内核苷酸可以用其他化合物为原料而合成。核酸降解的产物是核苷酸,核苷酸还可以进一步分解。此外,多种核苷酸类物质如 ATP、NAD、NADP、FMN、FAD、cAMP 和辅酶 A 等,它们参与各类物质代谢或代谢的调节,在生命活动过程中起着重要作用。

第一节 核酸和核苷酸的分解代谢

无论动物、植物或微生物,细胞内均普遍存在着分解核酸的酶系。动物的消化道内有分解核酸的多种酶,使食物中的核酸逐步水解成核苷酸、核苷等。但一般消化不完全,影响其吸收。

一、核酸的酶促降解(解聚)

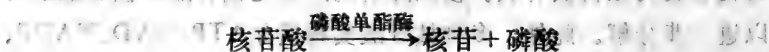


几乎在所有生物体中都能找到催化磷酸二酯键水解而使核酸降解的酶,称为核酸酶。其中专一水解 RNA 者称为核糖核酸酶(RNase),专一水解 DNA 者称为脱氧核糖核酸酶(DNase)。核糖核酸酶和脱氧核糖核酸酶中能够水解核酸分子内部的磷酸二酯键的酶又称为核酸内切酶。而能从 DNA 或 RNA 以及低级多核苷酸链的一端逐个地水解单核苷酸的核酸酶又称为核酸外切酶。有一些特异性较低的磷酸二酯酶对 DNA 和 RNA 均能起作用。

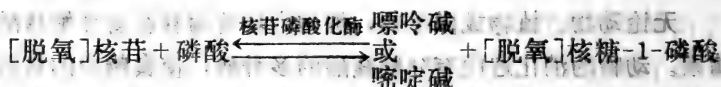
从 60 年代末期开始,在细菌体内陆续发现一类高度特异性的核酸内切酶。它们能识别 DNA 的特定核苷酸序列,并在特定位点(限制性位点)切断 DNA 链,使 DNA 产生双链裂口,这类酶称为限制性内切酶。如果识别序列中的碱基经过修饰,限制性内切酶就对它不起作用。通常细菌的内源 DNA 因识别序列被甲基化而得到保护;而外源 DNA 则受限制性内切酶作用而被切断,进而被脱氧核糖核酸酶迅速地降解成脱氧核苷酸。

二、核苷酸的水解

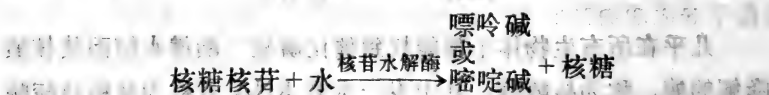
各种单核苷酸受细胞内多种磷酸单酯酶或核苷酸酶作用水解成为核苷与磷酸。



核苷的进一步分解主要受两类酶的作用，其过程及产物在各种生物中略有不同。核苷磷酸化酶的存在比较广泛，它催化的反应是可逆的，它分解核苷或脱氧核苷生成含氮碱和核糖或脱氧核糖的磷酸酯。



另一类是核苷水解酶，主要存在于植物和微生物体内，并且只能对核糖核苷起作用，反应是不可逆的，核糖核苷被水解为含氮碱和核糖。



核糖和核糖-1-磷酸可转化为核糖-5-磷酸，通过磷酸戊糖途径进行代谢；脱氧核糖-5-磷酸可能在组织中分解生成乙醛和甘油醛-3-磷酸，再进一步氧化分解。

三、嘌呤和嘧啶的分解

(一) 嘌呤的分解

核苷酸的分解产物嘌呤碱在生物体内可继续被分解。嘌呤碱的分解首先是在各种脱氨酶的作用下水解脱去氨基，腺嘌呤水解脱氨生成次黄嘌呤，鸟嘌呤水解脱氨生成黄嘌呤。次黄嘌呤被氧化成黄嘌呤，黄嘌呤又可被氧化成尿酸。嘌呤类化合物的脱氨反应也可以在核苷酸或核苷水平上进行，然后也经黄嘌呤氧化生成尿酸。它们的关系总结如图 10-2 和图 10-3。

不同种类的生物分解嘌呤的能力不一样，因而代谢产物也各

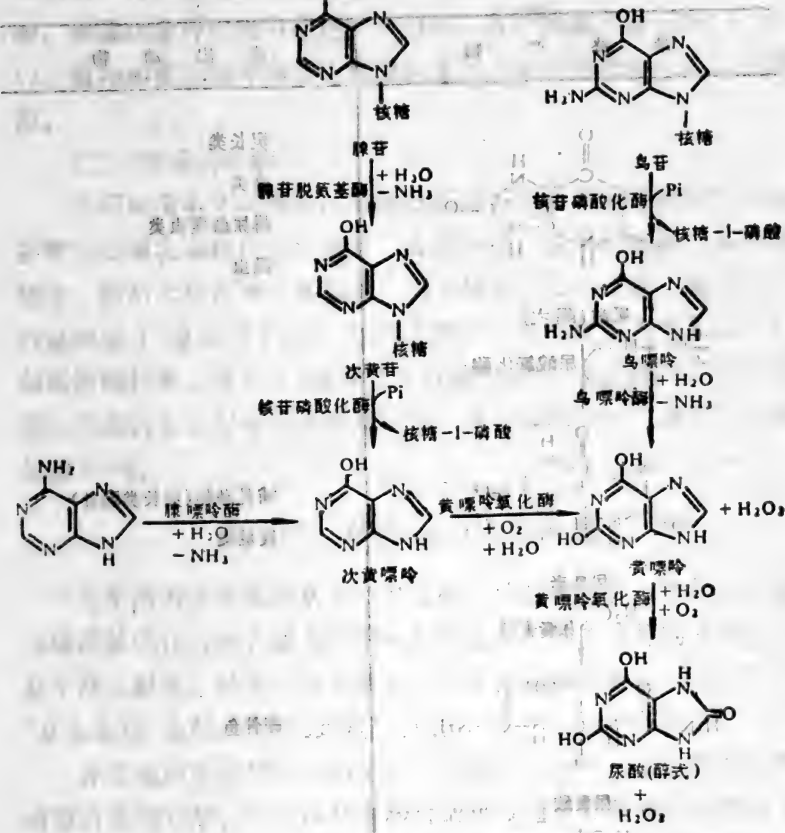


图 10-2 嘌呤类的分解代谢途径

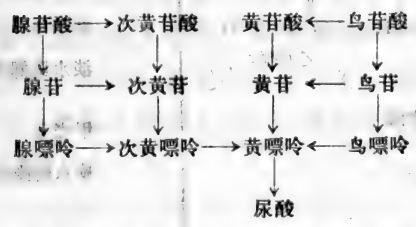


图 10-3 嘌呤类在核苷酸、核苷和碱基三个水平上的降解

表 10-1 嘌呤代谢的最终产物

最 终 产 物	排 出 动 物
<chem>O=C1NC(=O)NC(=O)N1</chem> 尿酸(酮式) $\xrightarrow[\text{尿酸氧化酶}]{\frac{1}{2}\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}}$ CO_2	灵长类 鸟类 排尿酸爬虫类 昆虫
<chem>NC(=O)NC(C(=O)N)C(=O)N</chem> 尿素 $\xrightarrow[\text{脲酶}]{\text{H}_2\text{O}}$	哺乳动物(灵长类除外) 腹足类
<chem>NC(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)N</chem> 尿酸 $\xrightarrow[\text{尿酸酶}]{\text{H}_2\text{O}}$	硬骨鱼
$2(\text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}_2) + \text{HC}(=\text{O})-\text{COOH}$ 尿素 乙醛酸 $\xrightarrow{\text{尿素酶}}$	大多数鱼类 两栖类 淡水瓣鳃类
$2\text{NH}_3 + \text{CO}_2$	甲壳类 咸水瓣鳃类

不相同。人、猿及鸟类等生物，体内嘌呤代谢的最终产物是尿酸。尿酸在多种生物中能进一步分解，其产物因动物而异(表10-1)。植物和微生物体内嘌呤代谢的途径大致与动物体内的途径相似。

(二) 嘧啶的分解

不同种类生物对嘧啶的分解过程也不完全相同。尿嘧啶和胸腺嘧啶在哺乳动物体内分解时，先还原成二氢尿嘧啶和二氢胸腺嘧啶，然后水解使嘧啶环裂开，再水解生成二氧化碳、氨和 β -丙氨酸或 β -氨基异丁酸。 β -丙氨酸经转氨作用脱去氨基后可参加脂肪酸代谢。部分 β -氨基异丁酸随尿排出。胞嘧啶经水解脱氨基作用转变为尿嘧啶而参加代谢。嘧啶碱的分解代谢途径归纳如图10-4。

第二节 核苷酸的生物合成

几乎所有生物都能从某些氨基酸、磷酸核糖、二氧化碳和氨等较简单的化合物合成各种嘌呤和嘧啶核苷酸。这样的合成过程并不经过碱基、核苷的中间阶段，通常把这样的合成途径称为“从头合成”途径或“从无到有”途径。

许多细胞能经济地利用从核酸分解产生的嘌呤碱、嘧啶碱和核苷合成核苷酸。这样的核苷酸合成可以通过多种不同的路线完成。一般认为由于遗传、疾病、药物、毒物，甚至生理紧张等原因，都会造成从头合成核苷酸途径中某种酶的缺乏，导致合成核苷酸速度不能满足细胞生长需要。而这些合成路线可以弥补核苷酸从头合成的不足，所以一般把由碱基或核苷合成核苷酸的途径称为“补救”途径。实际上细胞在正常情况也通过“补救”途径简便地合成新的核苷酸。

“补救”途径所利用的碱基和核苷主要是内源的，也可以是外源的。在细菌、植物和动物细胞内，核酸的分解产物常是它们的

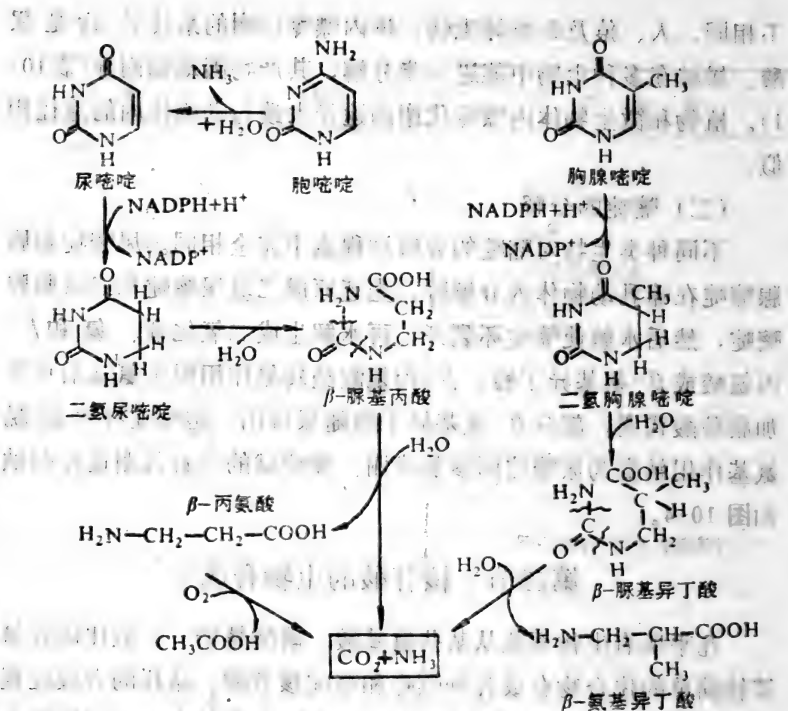


图 10-4 嘌呤的分解代谢

主要来源。外源组分包括细菌的生长介质和食物在动物消化道的分解产物。

一、嘌呤核糖核苷酸的生物合成

鸽子体内含氮化合物分解代谢的最终产物是尿酸，并以固体沉积物的形式排出体外。最初布尚南 (J.M. Buchanan) 等人以各种可能的同位素前体物喂饲鸽子，并且化学降解其排出的尿酸，测定出标记原子掺入到嘌呤环中的位置。证明了甘氨酸是碳4、碳5和氮7的来源；甲酸是碳2和碳8的来源；二氧化碳是碳6的来源。后来又证明了天冬氨酸的氨基氮是氮1的来源；氮3和氮

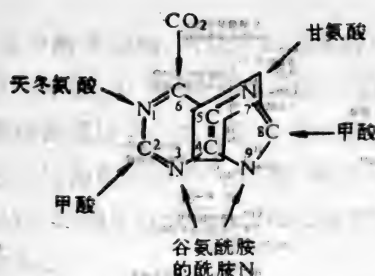


图 10-5 嘌呤环的前身物

9 则来自谷氨酰胺的酰胺氮。嘌呤环的元素来源如图 10-5 所示。

(一) 次黄嘌呤核苷酸的合成

生物从头合成腺苷酸和鸟苷酸的途径是从 α -D-核糖-5-磷酸的激活作用开始的。在磷酸核糖焦磷酸激酶的作用下, ATP 的焦磷酸基完全地转移给核糖 5-磷酸, 形成 5-磷酸- α -D-核糖-1-焦磷酸(PRPP)。PRPP 作为核苷酸的磷酸核糖部分的提供者, 在其第一碳原子上逐步增加原子, 完成嘌呤环的装配, 生成次黄苷酸。然后再由次黄苷酸转变成腺苷酸和鸟苷酸。合成次黄苷酸的复杂酶促步骤如图 10-6 所示。

(二) 腺苷酸和鸟苷酸的合成

次黄嘌呤核苷酸可由天冬氨酸供给氨基, GTP 提供能量, 合成腺苷酸。次黄苷酸又可氧化生成黄苷酸, 再由谷氨酰胺供给氨基, ATP 提供能量, 合成鸟苷酸。转变过程如图 10-7 所示。

(三) 嘌呤核苷酸的抗代谢物

某些物质在结构上与参加反应的天然代谢物相似, 它们能竞争性地抑制代谢中某种特殊的酶或其他反应, 这样的物质称为抗代谢物。

有一些抗代谢物能抑制嘌呤核苷酸的合成, 因而也就抑制了核酸的合成。其中有些是抗菌药物, 有些作为抗癌药物已应用于

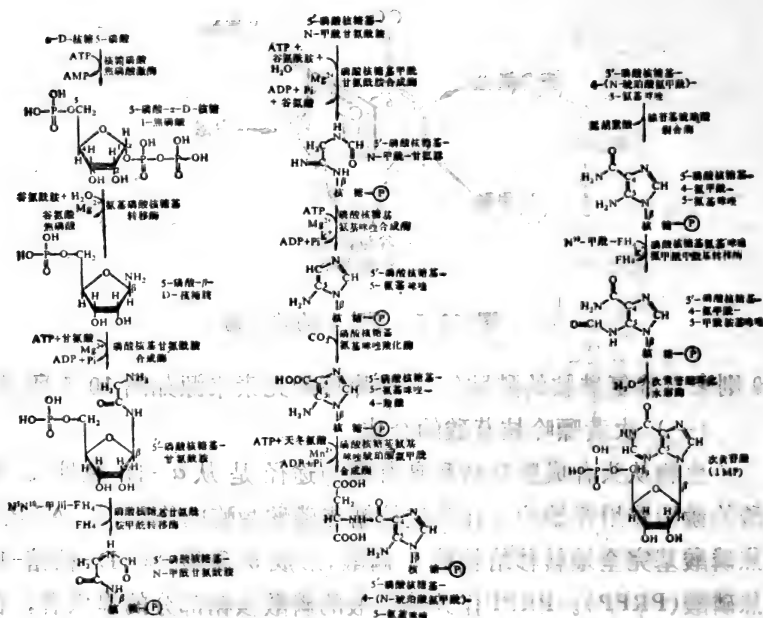


图 10-6 次黄苷酸(IMP)的生物合成

注意在第二个反应中D-核糖的第1碳原

子从 α 构型转化为 β 构型

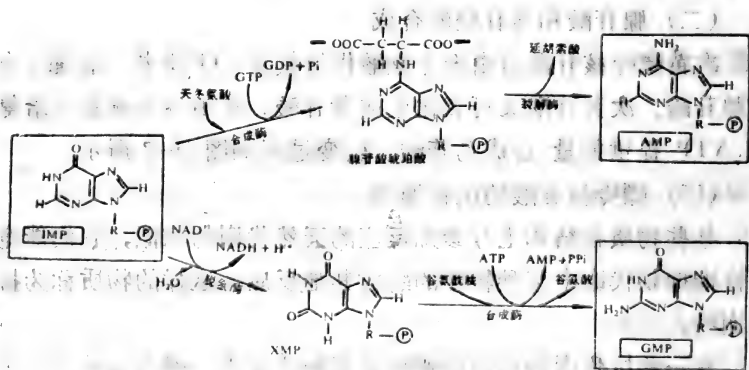
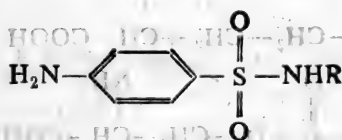


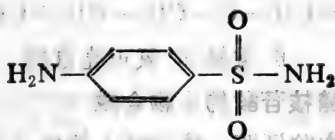
图 10-7 次黄苷酸转变成腺苷酸和鸟苷酸

临床。

1. 对氨基苯甲酸类似物：磺胺类药物在结构上与叶酸的基本单位对氨基苯甲酸相似(图 10-8)。在叶酸合成时，对氨基苯磺酰胺和其他磺胺类药物通过竞争性抑制作用而阻止对氨基苯甲酸的掺入。从而通过间接抑制需要 N^{10} -甲酰-四氢叶酸参与的 5-氨基咪唑-4-甲酰胺核苷酸的甲酰化反应，而阻断嘌呤的生物合成，抑制许多细菌的生长。



磺胺类的一般结构



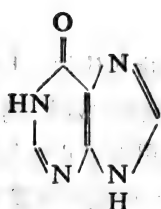
对氨基苯磺酰胺



对氨基苯甲酸

图 10-8 对-氨基苯甲酸及类似物

2. 嘌呤类似物：如 6-巯基嘌呤的化学结构与次黄嘌呤相似，在体内可生成 6-巯基嘌呤核苷酸，抑制次黄嘌呤核苷酸转变为 AMP 和 GMP。用于治疗白血病和绒毛膜上皮癌等。

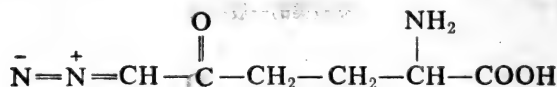
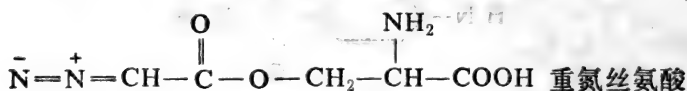
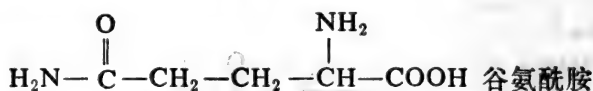


次黄嘌呤



6-巯基嘌呤

3. 谷氨酰胺类似物:重氮丝氨酸等结构与谷氨酰胺相似,能干扰谷氨酰胺参与嘌呤核苷酸合成的有关反应。



6-重氮-5-氧正亮氨酸

二、嘧啶核糖核苷酸的生物合成

同位素示踪实验证明,嘧啶环上的原子来自简单的前体化合物—— CO_2 、 NH_3 和天冬氨酸。



图 10-9 嘧啶核各原子的来源

(一) 尿嘧啶核糖核苷酸的生物合成

生物从头合成嘧啶核苷酸的过程与嘌呤核苷酸的合成不同。生物体先利用小分子化合物合成嘧啶环,再与磷酸核糖结合成为

乳清酸核苷酸，脱羧后生成尿嘧啶核苷酸。关键的中间化合物是乳清酸。核糖-5-磷酸仍由 5-磷酸- α -D-核糖-1-焦磷酸 (PRPP) 提供。尿苷酸的合成过程如图 10-10 所示。UMP 还可在 ATP 供给磷酸基团的条件下生成 UDP 和 UTP。

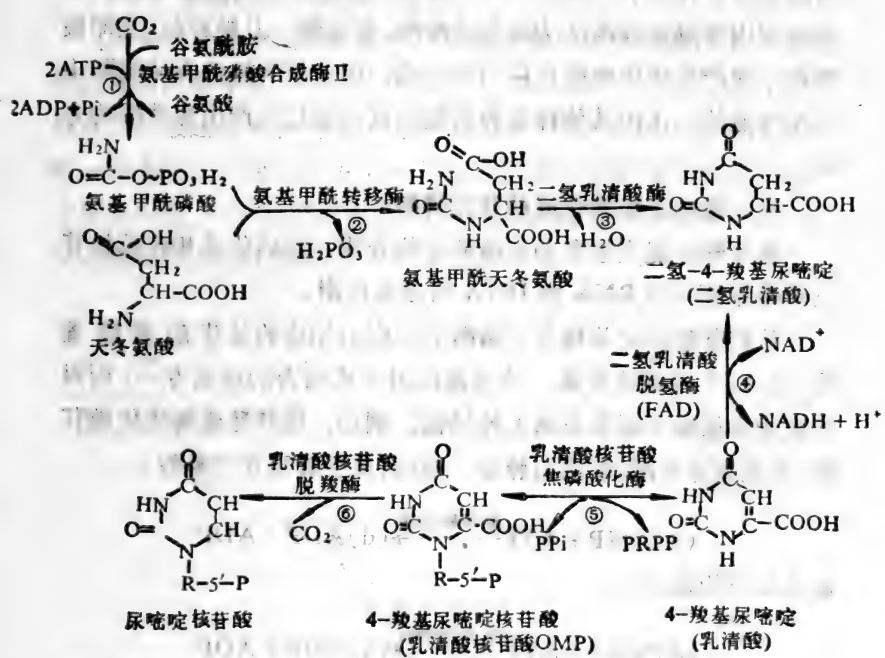
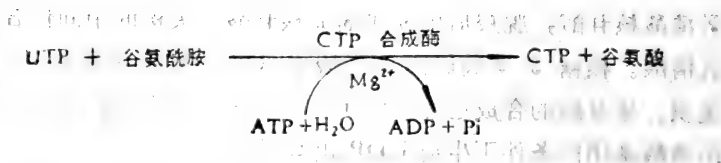


图 10-10 尿嘧啶核苷酸的合成

(二) 胞嘧啶核糖核苷酸的生物合成

由尿嘧啶核苷酸转变为胞嘧啶核苷酸是在三磷酸核苷酸水平上进行的。由谷氨酰胺提供氨基，可使 UTP 转变为 CTP。

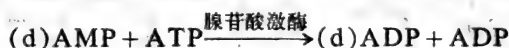


在嘌呤和嘧啶核苷酸的合成途径中,都由 PRPP 提供核糖-5-磷酸部分。伴随有焦磷酸(Pi) 释放的缩合反应是关键反应。由于细胞内普遍存在高活力的焦磷酸酶,焦磷酸一旦被释放,立即被水解,使产生焦磷酸的反应趋向完成。因此核苷酸的合成实际上是不可逆的。体内其他释放焦磷酸的反应也趋向产生焦磷酸的方向。

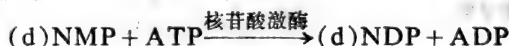
三、单核苷酸转化成核苷三磷酸

核苷酸不能直接参加核酸的生物合成,需转化成相应的核苷三磷酸才能参加 RNA 或 DNA 的合成代谢。

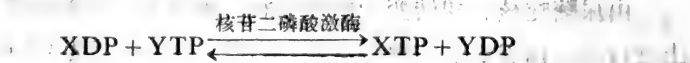
从核苷酸转化为核苷二磷酸的反应由相应的核苷酸激酶催化,由 ATP 供给磷酸基。这些激酶对其底物含的碱基专一,而对其底物含核糖或脱氧核糖无特异性。例如:腺苷酸激酶催化腺苷酸(或脱氧腺苷酸)转变为腺苷二磷酸(或脱氧腺苷二磷酸)。



此类反应的通式是:



核苷二磷酸和核苷三磷酸相互转变的反应由一种特异性很低的核苷二磷酸激酶催化。此酶对碱基和戊糖都没有特殊要求,与核酸有关的所有核苷(包括脱氧核苷)二磷酸和三磷酸均可在此酶作用下作为磷酸基的受体和供体。如以 X 和 Y 代表几种核苷(包括脱氧核苷),此酶催化的反应可用下式表示:



在体内主要是以 ATP 为磷酸基供体来合成其他核苷三磷酸。

四、脱氧核苷酸的生物合成

DNA 的合成以脱氧核苷三磷酸为原料。生物体中的脱氧核苷酸是由核糖核苷酸在核苷二磷酸水平上还原产生的。

(一) 核糖核苷二磷酸的还原

由大肠杆菌和动物组织中已分别提取出催化核糖核苷二磷酸还原反应的酶体系。此体系包括由 B_1 亚基和 B_2 亚基组成的核糖核苷二磷酸还原酶、含二分子结合的 FAD 的硫氧还蛋白还原酶和一种含有二个巯基的由 108 个氨基酸残基组成的硫氧还蛋白。还原反应需 ATP 供能，由 NADPH 通过硫氧还蛋白而供氢。反应过程如图 10-11 所示。

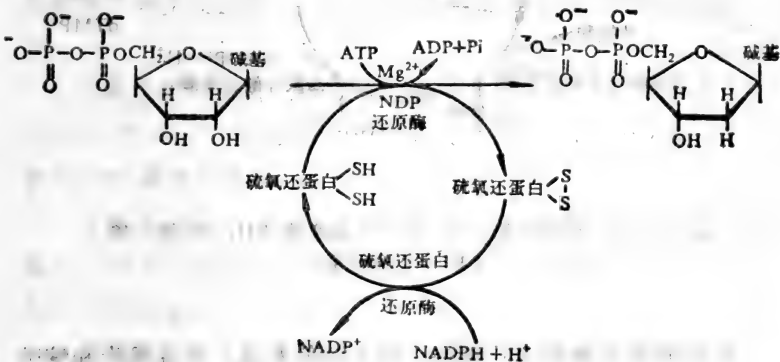


图 10-11 脱氧核苷酸的形成

许多原核生物(如乳酸杆菌、枯草杆菌、根瘤菌属等)细胞中的还原酶与大肠杆菌的还原酶不同,它以核糖核苷三磷酸为底物,还需要含维生素 B_{12} 的一种辅酶,并能用硫氧还蛋白或二氢硫辛酸作为还原剂。

(二) 脱氧胸苷酸的合成

脱氧胸苷酸是由脱氧尿苷酸甲基化而生成的。这个反应由胸苷酸合成酶催化。 N^5, N^{10} -亚甲基-四氢叶酸是甲基供体，产物为脱氧胸苷酸(dTMP)和二氢叶酸。二氢叶酸经二氢叶酸还原酶催化，由NADPH 供氢而被还原成四氢叶酸。在丝氨酸羟甲基转移酶催化下，四氢叶酸从丝氨酸接受亚甲基而转变成 N^5, N^{10} -亚甲基-四氢叶酸。dTMP 的合成如图 10-12。

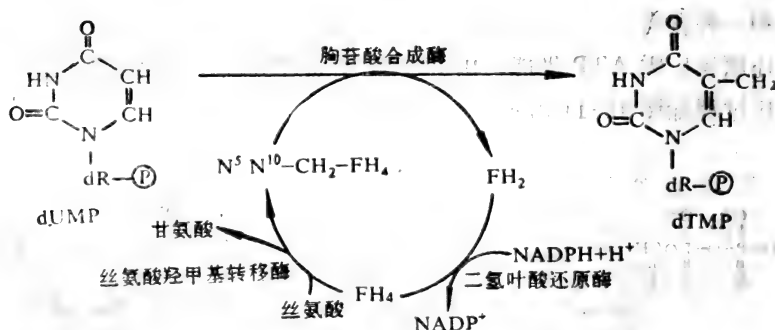
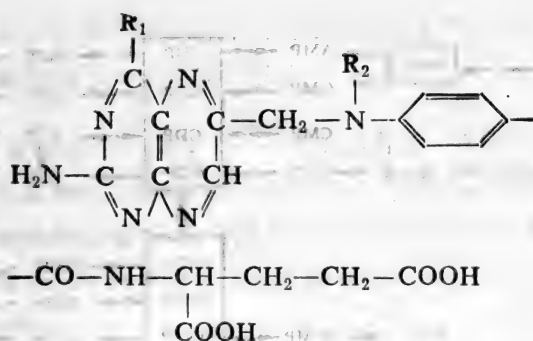


图 10-12 dTMP 的合成, dR=脱氧核糖, FH₄=四氢叶酸,
FH₂=二氢叶酸

叶酸的衍生物四氢叶酸是一碳单位的载体，它在嘌呤和嘧啶核苷酸的生物合成中起着重要的作用。某些叶酸的结构类似物如氨基蝶呤和氨甲蝶呤等，能与二氢叶酸还原酶发生不可逆结合，阻止了四氢叶酸的生成，从而抑制了它参予的各种一碳单位转移反应。氨基蝶呤等的主要作用点是胸苷酸合成反应中的一碳单位转移反应，因而干扰 DNA 的合成。临床上已用作治疗白血病的药物。它们的结构式如下，



叶酸: $\text{R}_1=\text{OH}$, $\text{R}_2=\text{H}$

氨基蝶呤: $\text{R}_1=\text{NH}_2$, $\text{R}_2=\text{H}$

氨甲蝶呤: $\text{R}_1=\text{NH}_2$, $\text{R}_2=\text{CH}_3$

在大肠杆菌中有活性较强的脱氧尿苷三磷酸酶(dUTP 酶), 在 dUTP 酶作用下 dUTP 的水解是大肠杆菌体内 dUMP (dTTP 的前体) 的主要来源。实验证明动物细胞中也可能有类似的反应。

对缺乏脱氧胞苷三磷酸脱氨酶的大肠杆菌变种的研究表明, 3/4 以上的 dUTP 是通过 dCTP 脱氨产生的, 只有一小部分 dUTP 经 dUDP 磷酸化生成。

在枯草杆菌、T_{双数}噬菌体感染的大肠杆菌等细菌和动物细胞中, dCMP 脱氨酶活性较强, 说明存在有直接由 dCMP 脱氨产生 dUMP 的通路。

核苷酸生物合成与核酸生物合成的关系总结如图 10-13。

五、核苷酸合成的补救途径

如前所述, 内源或外源的核酸分解代谢产生的嘌呤碱、嘧啶碱和核苷可以再用于核苷酸的生物合成, 这类合成途径称为核苷酸合成的补救途径。

(一) 嘌呤核苷酸合成的补救途径

嘌呤核苷酸合成的补救途径的主要机制是通过腺嘌呤磷酸核

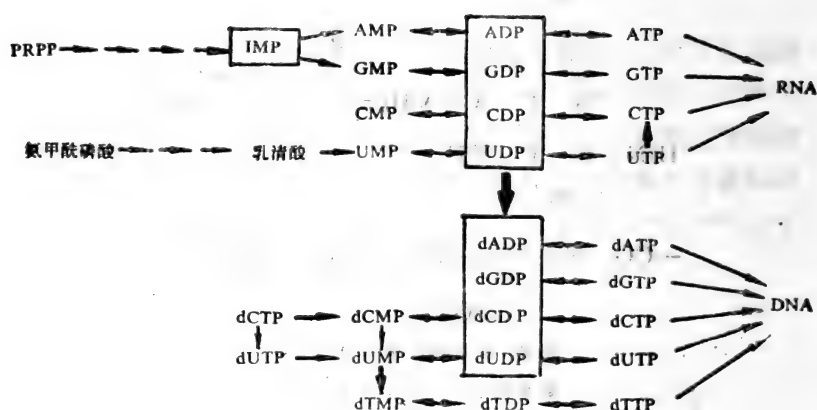
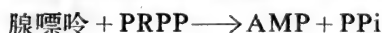
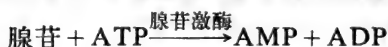


图 10-13 核苷酸生物合成的关系

糖基转移酶和鸟嘌呤(次黄嘌呤)磷酸核糖基转移酶将游离嘌呤直接与 PRPP 反应, 转化为相应的嘌呤核苷 5-磷酸而再利用。



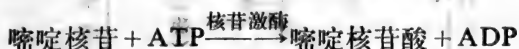
另一补救途径是由腺苷磷酸化酶和腺苷激酶连续作用。



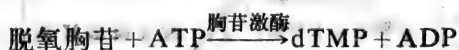
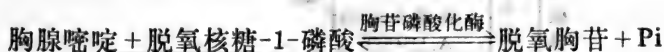
生物体内除腺苷激酶外, 缺乏其他嘌呤核苷的激酶, 此途径在生物体内是不重要的。而有 PRPP 参与由磷酸核糖基转移酶催化的前一个途径在脊椎动物节约嘌呤方面是非常重要的。人体内形成的游离嘌呤中 90% 都通过补救途径被再利用。骨髓、脑等组织不能完成从头合成途径, 必须依靠红细胞从肝脏运来的嘌呤碱或嘌呤核苷, 通过补救途径合成所需的嘌呤核苷酸。

(二) 嘧啶核苷酸合成的补救途径

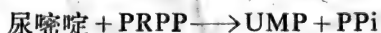
嘧啶核苷激酶在嘧啶的补救途径中起着重要作用。各种嘧啶核苷在激酶作用下转化为核苷酸。



游离的尿嘧啶和胞嘧啶很少被利用,但从胸腺嘧啶或胸苷转变为胸苷酸的补救途径,除真菌外,对所有细胞都是一样的。故常利用放射性标记的胸腺嘧啶或脱氧胸苷掺入 DNA 的实验检查 DNA 的合成。



在动物及微生物细胞中都有尿嘧啶磷酸核糖基转移酶,催化尿嘧啶直接和 PRPP 反应产生 UMP。胞嘧啶不能作为此酶的底物。



核酸的分解代谢与补救途径的主要关系归纳如图 10-14。

第三节 DNA 的合成

在机体内 DNA 合成主要包括 DNA 复制和逆向转录两个方面。

一、DNA 的半保留复制

DNA 由两条互补的多核苷酸链组成,一条链上的核苷酸排列顺序可以决定另一条链的核苷酸排列顺序。1953 年华生(Watson)和克里克(Crick)在提出 DNA 双螺旋结构模型的同时,根据 DNA 双螺旋碱基配对的专一性,推论了遗传物质的复制机制。DNA 复制时两条互补链分开,然后在每条链上按碱基配对规律形成互补的新链以组成新 DNA 分子。每个 DNA 分子的两条链都可以作为形成其互补链的模板。复制的结果是形成了与亲代 DNA

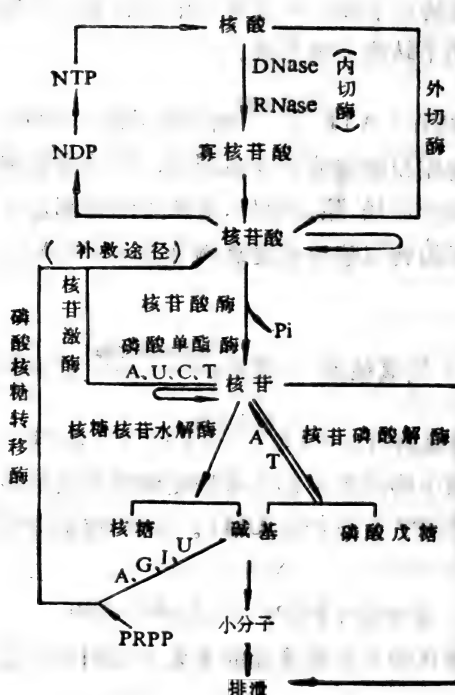


图 10-14 核酸代谢图

分子完全相同的两个子代 DNA 分子，而且每个子代 DNA 分子中的一条链来自亲代 DNA，另一条链则是新合成的。这种复制方式称为半保留复制(图 10-15)。

1958年梅塞尔森(M. Meselson)和斯塔尔(F.W. Stahl)首次用实验直接证明了 DNA 的半保留复制。他们先使大肠杆菌长期在以 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ 为唯一氮源的培养基中生长，使其 DNA 全部变为 ^{15}N -DNA。然后再将细菌转入普通培养基(含 $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$)中，并将各代的细菌 DNA 抽提出来进行氯化铯密度梯度离心。

此法是用每分钟数万转的高速长时间离心，使离心管内的氯化铯溶液因离心作用与扩散作用达到平衡而形成密度梯度，即氯

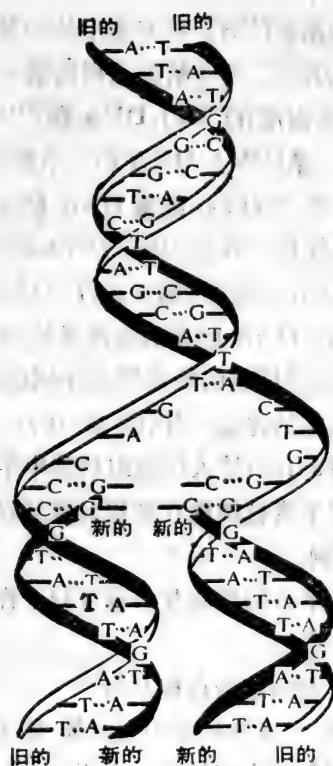


图 10-15 DNA 的复制

化铯溶液的浓度从管底部向上逐渐变小。同时,溶液中的DNA亦逐渐聚集在与其密度相同的氯化铯位置处形成区带。由于DNA强烈吸收 260 nm 的光波,离心过程中所得紫外吸收照片显示出DNA区带的位置。由于 $[^{15}\text{N}]$ -DNA(重DNA)比正常的 $[^{14}\text{N}]$ -DNA(轻DNA)的密度明显地大些,在氯化铯密度梯度中用平衡离心法可以使 $[^{15}\text{N}]$ -DNA与 $[^{14}\text{N}]$ -DNA分离, $[^{15}\text{N}]$ -DNA形成的区带靠近离心管的下部,而 $[^{14}\text{N}]$ -DNA形成的区带则位于离

心管的较上部。

实验结果, 长期在 $[^{15}\text{N}]$ 培养基中的细菌 DNA 只形成一条 $[^{15}\text{N}]$ -DNA 区带; 移至 $[^{14}\text{N}]$ 培养基后的第一代(F_1) 细菌 DNA 只形成一条区带, 其密度在 $[^{15}\text{N}]$ -DNA 和 $[^{14}\text{N}]$ -DNA 的区带之间, 说明形成了由一条 $[^{15}\text{N}]$ -DNA 和一条新合成的 $[^{14}\text{N}]$ -DNA 组成的杂交分子; 第二代(F_2) 细菌 DNA 形成二条浓度相等的区带, 一条区带的密度和 $[^{15}\text{N}]$ - $[^{14}\text{N}]$ -DNA 杂交分子的密度相等, 另一条是 $[^{14}\text{N}]$ -DNA 的区带; 第三代(F_3) 以后, 细菌 DNA 仍形成二条区带, $[^{14}\text{N}]$ -DNA 区带的浓度成比例地增加, 而 $[^{15}\text{N}]$ - $[^{14}\text{N}]$ -DNA 杂交分子区带的浓度则成比例地降低。实验结果与半保留复制假说预期的完全一样(图 10-16)。

由泰勒(J.H.Taylor)等人用组织培养中生长的豆芽根细胞所作的类似实验证明了真核细胞在细胞分裂过程中也出现染色体 DNA 的半保留复制。

此后, 对细菌、动植物细胞及病毒进行了许多研究, 都证明了 DNA 复制的半保留方式。

(一) DNA 复制的起始点和方向

许多实验证明, 大多数病毒和原核细胞 DNA 的复制是由某个特定位点即复制起始点开始的。对于小分子 DNA 或大分子 DNA 片段, 利用电子显微镜可以观察到这些位点显示双链的“鼓泡”。复制时, 双螺旋 DNA 先在起始点解开双链, 两条链均作为模板分别进行复制, 因此这个生长点呈叉子的形式, 称为“复制叉”。细胞内存在有能识别起始点的特殊酶系。

用放射自显影实验或电子显微镜观察证明了 DNA 复制可以朝一个方向进行, 也可以朝相反的两个方向进行。1963 年凯恩斯(J.Cairns)把大肠杆菌在有 ^3H -胸腺嘧啶存在下培养二代, 用放射自显影法观察到大肠杆菌染色体是一条连续的双链环状 DNA。复制时“鼓泡”向两个方向扩大, 即“鼓泡”是由两个从起始中心点



图 10-16 Meselson-Stahl 实验的结果 (左边) 在密度梯度离心达到平衡后, DNA 带的位置, (右边) 对照 DNA 的形式以及细胞在含 ^{14}N 培养基中分裂三次后 DNA 的形式。“重”指 ^{15}N -DNA, “轻”指 ^{14}N -DNA。此结果完全支持半保留复制

逐渐远离的复制叉组成的, 所以 复制的中间产物外观象字母 “ θ ” (图 10-17)。大多数生物染色体 DNA 的复制是双向等速进行的。但也有一些例外的情况, 例如枯草杆菌 DNA 复制从特定的

起始点开始后,两个复制叉的移动是不对称的;质粒 ColE 1 的复制完全是单向进行的。

通常,细菌的 DNA 分子是作为一个复制单位(复制子)完成复制的。病毒和线粒体 DNA 也是如此。但是真核细胞染色体 DNA 要大得多,实验证明,它们可以同时在许多起始点上进行双向复制,也就是说,真核细胞染色体 DNA 包含许多复制单位。在一个哺乳动物细胞里可以有 10^3-10^5 个复制单位。

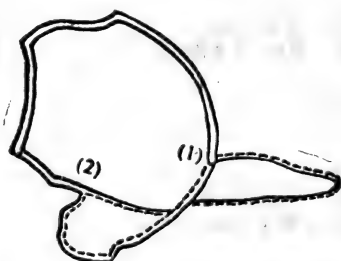


图 10-17 ^3H -胸腺嘧啶核苷标记的大肠杆菌染色体复制二代的图示

三分之二的染色体已复制、二个复制叉口为(1)和(2)

(二) 与 DNA 复制有关的酶和蛋白质

DNA 复制过程十分复杂,但能以高速度精确地进行,极少出现错误(发生错误的机率低到 $10^{-8}-10^{-9}$),这是许多酶和蛋白质共同作用的结果。下面介绍与 DNA 复制有关的主要酶类和蛋白质。

1. DNA 聚合酶

1956 年科恩伯格(A. Kornberg)与其同事们将大肠杆菌无细胞提取液与 ^{32}P 标记 α -磷酸基的四种 dNTP(图 10-18)混合物一同温育,发现 ^{32}P 掺入到延伸的 DNA 链的核苷酸残基之间的 $3'$, $5'$ -磷酸二酯键中去。并且首先从大肠杆菌提取到以 DNA 为模板,四种脱氧核苷 $5'$ -三磷酸为前体合成 DNA 的第一种酶(DNA

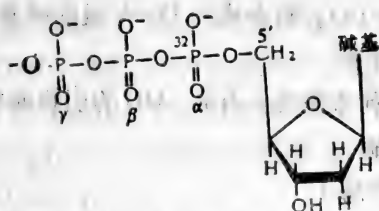
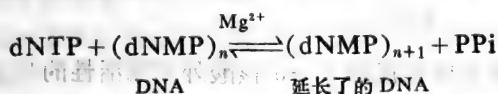


图 10-18 一个在 α -磷酸根上标记了的脱氧核糖核苷 5'-三磷酸

聚合酶 I)。这样一类依赖 DNA 的 DNA 聚合酶简称 DNA 聚合酶。它们催化 DNA 新链合成时,需要 DNA 模板 及与模板 DNA 互补的一小段具有 3'-OH 末端的多核苷酸引物(DNA 链或 RNA 链均可),需要 Mg^{2+} (或 Mn^{2+})激活, 需要四种脱氧核苷三磷酸作为底物。DNA 聚合酶催化的聚合反应是按照模板 DNA 的碱基顺序,把互补的脱氧核苷三磷酸逐个加在引物的 3'-OH 上,每形成一个 3',5'-磷酸二酯键的同时,释放出一个焦磷酸。新加上具有 3'-OH 的核苷酸现在占据引物的 3'-末端位置。增加一个核苷酸残基的反应如下:



随着焦磷酸的水解, 反应向聚合方向进行。DNA 链按 5'→

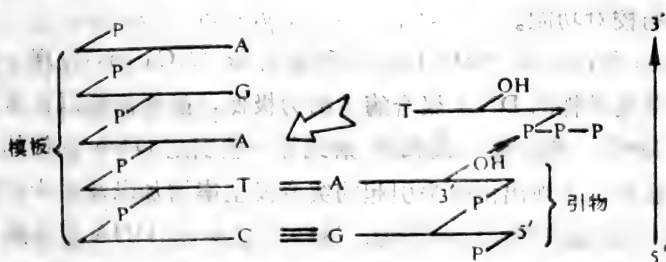


图 10-19 DNA 模板-引物模型。DNA 聚合酶催化 5'→3'的聚合反应

3'方向延长(图 10-19)。新合成的 DNA 链的碱基顺序与模板 DNA 的碱基顺序互补。

还没有找到任何不需要具有3'-OH的引物而能够起始DNA合成的 DNA 聚合酶。

(1) DNA 聚合酶 I

DNA 聚合酶 I 是分子量为 109,000 的一条多肽链。它不仅具有 5'→3'聚合酶活力,能催化 DNA 链的延长,而且还具有从 DNA 的 3'或 5'末端按 3'→5'或 5'→3'方向把 DNA 逐步水解的外切酶作用(图 10-20)。

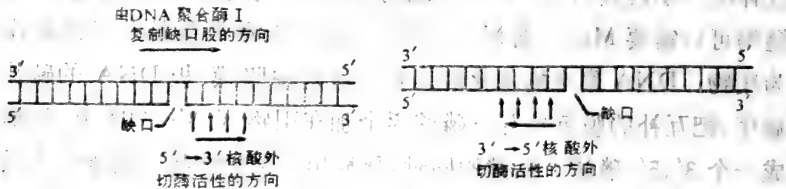


图 10-20 DNA 聚合酶 I 的 5'→3'和 3'→5'核酸外切酶活性的作用。连续地依所指方向每次除去一个残基(直立箭头)

活动方向与复制方向相反的 3'→5'核酸外切酶活性的功能是识别和切除与模板错配的 3'-末端核苷酸残基,以保证引物 3'-末端与模板是恰当地成碱基配对的。因此,这个活性被称为 DNA 聚合酶的校对功能。

1969 年卢西亚(P.De Lucia)和凯恩斯(J.Cairns)发现一株大肠杆菌变异株的 DNA 聚合酶 I 活力极低,虽然仍能以正常速度合成 DNA,但对紫外线和 X-射线等一些引起 DNA 损伤的力量非常敏感,表现出由缺失引起的突变发生率增加以及缺少修补 DNA 中单股缺口和空缺的能力。这些发现表明,DNA 聚合酶 I 不是负责复制 DNA 的酶,而主要是与修复 DNA 有关的酶。

(2) DNA 聚合酶 II

DNA 聚合酶 II 的分子量约为 120,000。与 DNA 聚合酶 I 相似,它能催化 DNA 链按 $5' \rightarrow 3'$ 方向的聚合反应,但活力很低。DNA 聚合酶 II 也具有 $3' \rightarrow 5'$ 核酸外切酶活力,在聚合过程中起校正作用。但它没有 $5' \rightarrow 3'$ 核酸外切酶活力。大肠杆菌 DNA 聚合酶 II 的体内功能还不清楚。

(3) DNA 聚合酶 III

DNA 聚合酶 III 由 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ 和 θ 等亚基结合在一起组成,称为 DNA 聚合酶 III 全酶。其中由 α 、 ϵ 和 θ 亚基组成核心酶,分子量约为 180,000。DNA 聚合酶 III 与 DNA 聚合酶 I 一样,既有 $5' \rightarrow 3'$ DNA 聚合酶活力,也具有 $5' \rightarrow 3'$ 核酸外切酶活力,又具有 $3' \rightarrow 5'$ 核酸外切酶活力,在聚合过程中起校正作用。

DNA 聚合酶 III 是三种聚合酶中活性最高的一种,它比 DNA 聚合酶 I 的活性高 15 倍,比 DNA 聚合酶 II 的活性高 300 倍。许多研究结果表明,DNA 聚合酶 III 是 DNA 复制中起主要作用的酶。DNA 聚合酶 III 的生物活性形式是其二聚体。它与多种蛋白质结合组成 DNA 聚合酶 III 全酶。DNA 聚合酶 III 全酶明显地引起 DNA 链生长的开端。DNA 链生长的引发过程需要 ATP 供能。

大肠杆菌 DNA 聚合酶 I、II 和 III 的主要性质归纳于表 10-2。

从其他细菌中也分离出类似的 DNA 聚合酶,它们的性质大致相同。

(4) 真核细胞的 DNA 聚合酶

在高等真核细胞中已分离到 3 种 DNA 聚合酶,即聚合酶 α 、 β 、 γ 。它们的主要性质归纳于表 10-3。

真核细胞的 DNA 聚合酶与细菌 DNA 聚合酶的性质相似,聚合反应需要 DNA 模板和具有 $3'-OH$ 末端的引物链,需要 Mg^{2+} (或 Mn^{2+}) 激活,以四种脱氧核苷三磷酸作为底物, DNA 链

表 10-2 大肠杆菌DNA聚合酶 I, II 和III的主要性质

	聚合酶 I	聚合酶 II	聚合酶 III
聚合作用 $5' \rightarrow 3'$	+	+	+
外切酶 $3' \rightarrow 5'$	+	+	+
外切酶 $5' \rightarrow 3'$	+	-	+
分子量	109,000	120,000	180,000
每个细胞的分子数	400	100	10
转化率*	1	0.05	15

* 以 DNA 聚合酶 I 的转化率为 1, 在 37°C 每分子 DNA 聚合酶 I 每分钟聚合核苷酸数约为 1000。

表 10-3 高等真核细胞的 DNA 聚合酶

DNA 聚合酶	α	β	γ
分子量	110,000—220,000	45,000	110,000
细胞内分布	细胞核*	细胞核	线粒体和核
酶活力占总量的百分比	80—90%	10—15%	2—15%
核酸酶活力	无	无	内切酶?

* 在分离时容易进入细胞质部分。

延长的方向为 $5' \rightarrow 3'$ 。但真核细胞的 DNA 聚合酶一般都不具有核酸外切酶活力。推测会有另外的酶在 DNA 复制中起校对作用。由于 DNA 聚合酶 α 在细胞内活力水平变化与 DNA 复制有明显的平行关系, 在细胞分裂的 S 期达到高峰, 目前认为它在染色体 DNA 复制中起着关键的作用。

2. DNA 连接酶

1967 年几个实验室同时发现了 DNA 连接酶(多核苷酸连接酶)。它催化双链 DNA 中一条链断口的末端 $3'-\text{OH}$ 与末端 $5'$ -磷酸基之间形成 $3', 5'$ -磷酸二酯键, 把断开的两段 DNA 链共价

连接起来。反应需要供给能量，由细菌 DNA 连接酶催化的连接反应与 NAD 焦磷酸键断裂的供能反应相偶联；动物细胞和噬菌体的连接酶催化的连接反应与 ATP α, β -焦磷酸键断裂的供能反应相偶联(图 10-21)。

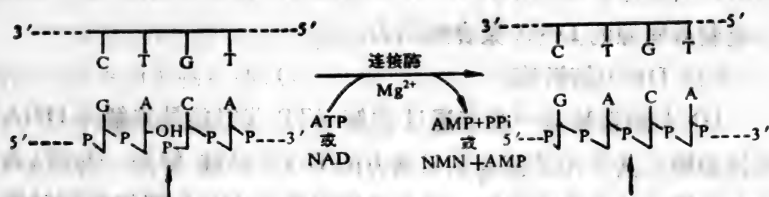


图 10-21 DNA 连接酶催化的反应

3. 引发酶

已知的 DNA 聚合酶都不能催化复制的起始，需要具有 3'-OH 的多聚核苷酸作引物。许多实验证明，引物是在 DNA 复制前先行合成的一小段 RNA。这小段 RNA 是由一种 DNA 指导的 RNA 聚合酶与复制的起始部位结合，以 DNA 为模板，以四种核苷 5'-三磷酸为底物合成的短段 RNA。这短段 RNA 称为 RNA 引物。原核细胞的 RNA 引物约由 50—100 个核苷酸残基组成，真核细胞的 RNA 引物约由 10 个核苷酸残基组成。RNA 引物的合成过程称为引发。催化 RNA 引物合成的这种 RNA 聚合酶称为引发酶。引发酶的作用不仅合成 RNA 引物，而且与复制起始部位双链的解开有关，有许多种蛋白质与引发酶结合在一起构成“引发体”，共同参与 DNA 复制的起始过程。

4. 与 DNA 双螺旋解开有关的酶和蛋白质

DNA 双螺旋分子具有紧密盘绕的高级结构，在 DNA 复制中双螺旋要解开，这是十分复杂的过程。现在已经找到一些酶和蛋白质，它们或者能使 DNA 双链变得易于解开，或者可使超螺旋分子松弛。下面介绍其中的几种。

(1) 单链结合蛋白(SSB)

SSB 能使天然 DNA 的融点降低。原核细胞 SSB 的作用方式是它先与已存在的单链区结合,并从此侵蚀双链部分。真核细胞的 SSB 是先结合在 DNA 双链上,并使之融化。SSB 与 DNA 单链结合后能保护复制中的 DNA 单链部分不被核酸酶降解。SSB 还能刺激同源的 DNA 聚合酶活力。

(2) DNA 解链酶

DNA 解链酶是一类能通过水解 ATP 获得能量来解开 DNA 双链的酶。其作用是使复制叉前方的 DNA 双链解开一短段,为 SSB 提供可结合的单链区。近年来发现某些 DNA 解链酶同时还具有引发酶的功能。

(3) DNA 旋转酶

DNA 旋转酶兼有内切酶与连接酶的活力,能迅速使 DNA 的二条链断开又接上。当与 ATP 水解产生 ADP 和 P_i 的反应偶联时,使环状 DNA 从松弛态转变为超螺旋状态;在没有 ATP 时可使超螺旋 DNA 变为松弛态。旋转酶可协助解链酶使 DNA 解旋成为复制的模板;又可使完成了复制的两个子代环状双螺旋 DNA 互相分开。DNA 旋转酶广泛存在于各种生物中,是完成 DNA 复制所必需的酶。

(三) 原核细胞 DNA 的复制(DNA 指导下的 DNA 合成)

按照 Watson-Crick 双螺旋结构模型和半保留复制假说,复制时 DNA 双螺旋在起始位点逐渐解开双链,成为两条方向相反的模板链,在两条模板链上分别进行复制,合成与模板链互补的新链。由于已发现的 DNA 聚合酶都只能在 $3' \rightarrow 5'$ 方向的模板上以脱氧核苷 $5'$ -三磷酸为底物,催化从 $5'$ -端向 $3'$ -端的聚合反应,而不能利用 $5' \rightarrow 3'$ 方向的 DNA 链作模板,催化从 $3'$ -端向 $5'$ -端的聚合反应。那么, DNA 的两条链怎样才能协同地进行复制呢?

为了解决上述问题,曾经提出多种模型,其中半不连续复制模

型有大量实验证据的支持。这个模型认为,复制时在 DNA 双链分开形成的二条模板上,两条新链都按 $5' \rightarrow 3'$ 方向合成,其中一条链是连续合成的,而另一条链则是先合成短的片段,然后再连接起来成为新链。半不连续复制模型的主要证据来自冈崎等人的工作。

1968 年冈崎(Okazaki)等用 ^3H -胸腺嘧啶脱氧核苷掺入被 T_4 噬菌体感染的大肠杆菌,然后分离标记的 DNA 产物,发现短时间内首先合成的是较短的 DNA 片段,接着出现较大的片段。这些 DNA 片段一般被称为冈崎片段。进一步的研究证明,冈崎片段在细菌和真核细胞的 DNA 复制中普遍存在。

通过对原核细胞的冈崎片段进行分析,发现它们以共价键连着小段 RNA 链。用专一的核酸酶水解证明, RNA 链在冈崎片段的 $5'$ -末端。整个冈崎片段的长度约为 1000—2000 个核苷酸残基。证明了 DNA 的合成需要以 RNA 为引物。

经过冈崎及许多工作者的研究,现在认为 DNA 的复制是半不连续的过程。图 10-22 给出了一个这样的模型。

根据这个模型,沿复制叉向前移动的方向,图右侧一条亲代模板链是 $3' \rightarrow 5'$ 方向,在此模板上新的 DNA 链按 $5' \rightarrow 3'$ 方向连续合成,合成方向与复制叉移动的方向一致,此连续合成的新链称为“前导链”(leading strand)。在图左侧一条 $5' \rightarrow 3'$ 方向的亲代模板链上,新生的 DNA 链也是按 $5' \rightarrow 3'$ 方向合成,其合成方向与复制叉移动的方向相反。随着复制叉的移动,在此模板上合成若干短的 DNA 片段(冈崎片段),再通过连接酶的作用把这些短片段连接起来成为一条完整的 DNA 新链。这条不连续合成的新链称为“滞后链”(laggard strand)。滞后链的合成过程如图 10-23 所示。这种前导链的连续复制和滞后链的不连续复制称为 DNA 的半不连续复制。

DNA 的半不连续复制包含三个主要阶段,其过程如图 10-24

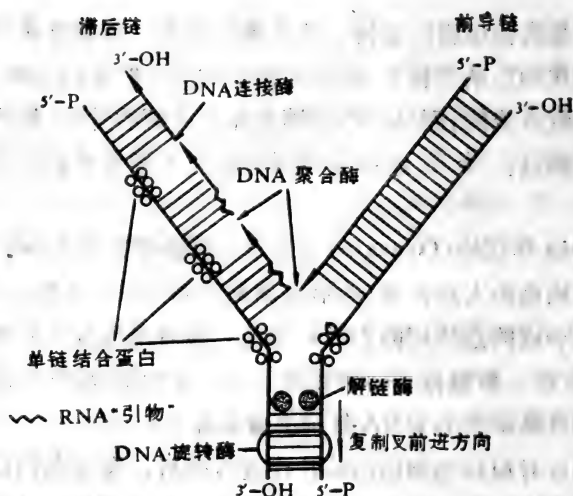


图 10-22 DNA 半不连续复制的模型

在 Y 形的右臂, 互补链是连续复制的, 在左臂, 随着亲代 DNA 的不断解旋, DNA 聚合酶必须再次固定在预先合成的一段 RNA 引物上 (见图 10-23)。DNA 连接酶把分段合成的 DNA 短片段 (在 RNA 片段被 DNA 所取代后) 连接起来。解链酶使亲代 DNA 双链分离开



图 10-23 大肠杆菌 DNA 复制时, 滞后链的合成过程

(A) 在双螺旋 DNA 解旋后的亲代单链 DNA。(B) 在 DNA 模板上, RNA 引物的合成。引发酶结合到以圆点标出的特定起步位置上 (●), 合成 RNA 引物, 在结束记号的位置 (×), RNA 停止合成。(C) 通过 DNA 聚合酶, 从 RNA 引物 3'-OH 开始合成 DNA。(D) 由 DNA 聚合酶 I 的 5'→3' 外切酶活性切除 RNA 引物。(E) DNA 聚合酶 I 延长 DNA, 填满空缺。(F) 新合成 DNA 片段 (Okazaki 片段) 之间被共价键连接

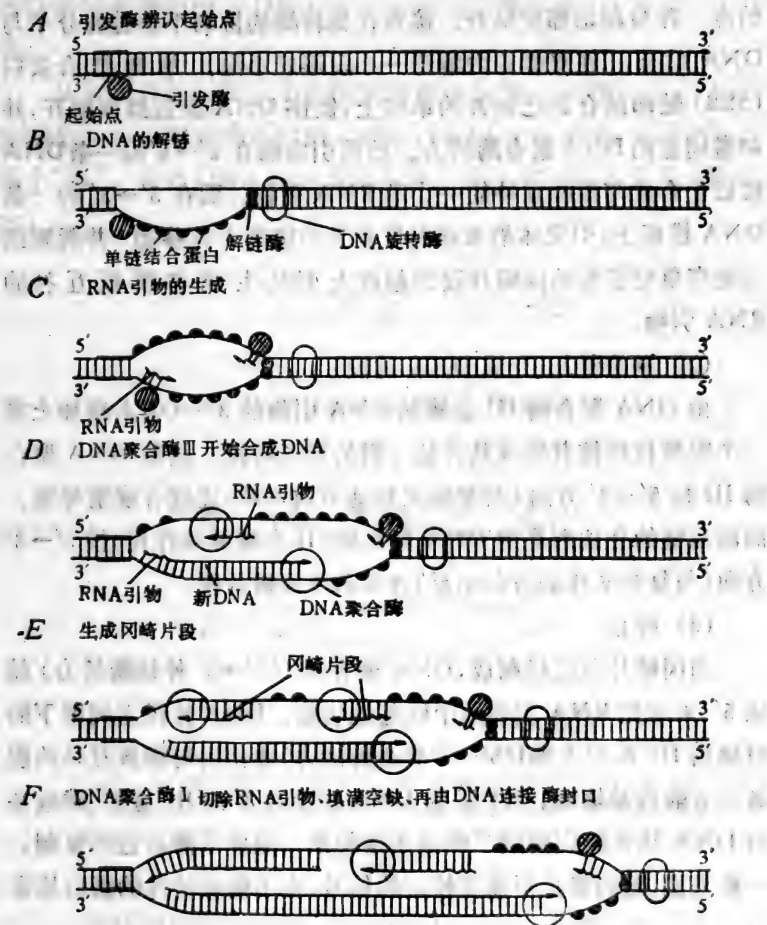


图 10-24 DNA 半不连续复制假说示意图

所示。

(1) 起始(RNA 引物的合成)

原核细胞的 DNA 复制是在 DNA 上一个专一的起始点上开

始的。首先引发酶与多种蛋白质结合组成的引发体识别复制的起始点，并与起始部位结合。接着在旋转酶的协助下解链酶分子与DNA结合，在双螺旋内解开一小段形成小泡。单链结合蛋白(SSB)随即结合到已解开的单链上，促使DNA双链继续解开，并刺激同源的DNA聚合酶活力。然后引发酶在 $3' \rightarrow 5'$ 的一条DNA模板上合成与模板互补的一小段RNA引物；而在 $5' \rightarrow 3'$ 的一条DNA模板上，引发体沿单链向复制叉前进的方向移动，并断断续续地在单链模板的冈崎片段的起点上引发生成与模板互补的RNA引物。

(2) 链的延长(合成DNA片段)

由DNA聚合酶III全酶向RNA引物的 $3'$ -OH末端加上第一个脱氧核糖核苷酸残基开始了链的延长阶段。接着DNA聚合酶III按 $5' \rightarrow 3'$ 方向(与复制叉移动方向一致)连续合成前导链。而滞后链的合成则是由DNA聚合酶III全酶继续作用，按 $5' \rightarrow 3'$ 方向(与复制叉移动方向相反)合成若干冈崎片段。

(3) 终止

当冈崎片段已经制成，DNA聚合酶I($5' \rightarrow 3'$ 外切酶活力)就从 $5'$ -末端把RNA引物逐个残基地切除。DNA片段之间留下的空缺由DNA聚合酶I($5' \rightarrow 3'$ 聚合酶活力)催化用与模板互补的脱氧核苷酸残基填满。相邻的DNA片段的 $3'$ -OH与 $5'$ -磷酸基由DNA连接酶以磷酸二酯键连接起来，完成了滞后链的复制。一般来说，链的终止不需要特定的信号，也不需要特殊的蛋白质参与。

上述过程是从大肠杆菌DNA复制过程的研究中了解到的主要步骤。在不同的生物中DNA复制的细节会有所不同。随着研究工作的继续深入，必然会对复制过程有更详细的了解。

(四) 真核细胞DNA的复制(DNA指导下的DNA合成)

真核细胞有多个染色体，DNA分子大，而且缠绕在组蛋白聚

合体上构成核小体,核小体又盘绕形成紧密压缩的复杂结构,因此可以预料真核细胞的 DNA 复制比原核细胞的 DNA 复制复杂得多。

从放射自显影和电子显微镜观察中发现,真核细胞的 DNA 复制是从多个起始点开始的,而且以双向方式复制。因此形成许多个“眼”,亲代 DNA 链分离和复制直到这些“眼”相会合(图 10-25)。

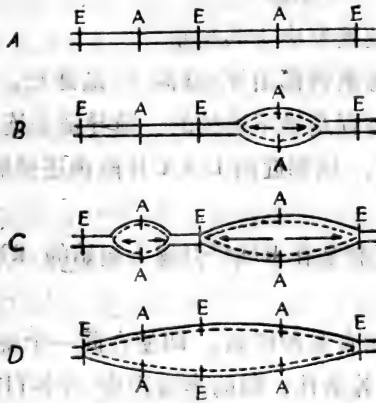


图 10-25 哺乳动物染色体 DNA 复制图

A=复制起点;E=某一复制片段终点。(A)在两条线之间代表 DNA 片段。(B)首先在右边开始复制。(C)接着在左边开始。(D) DNA 合成(新合成 DNA 以虚线表示)总是从起始点 A 开始,同时经两个方向进行。等到两个复制片段复制结束后,两条亲代 DNA 链也同时达到分离位置

在真核细胞中也发现冈崎片段(100—200个核苷酸残基),冈崎片段的5'-端也具有 RNA 引物(约含 10 个核苷酸残基),真核细胞的 DNA 聚合酶、连接酶以及与 DNA 双螺旋解旋有关的各种酶和蛋白质都与原核细胞中相应的酶和蛋白质有相似的性质。因此认为真核细胞中 DNA 的复制过程可能与原核细胞类似。真核细胞的复制叉移动比较慢,但由于有多个复制单位同时复制,所以总

速度仍然很快。

(五) 对 DNA 复制的小结

综上所述, DNA 复制的基本特点如下:

1. 复制的方式是半保留复制。
2. 细菌或病毒的 DNA 复制起始于一个特定位点;真核细胞染色体 DNA 复制有多处起始点。
3. 复制可以是单向的,多数是双向的。双向复制时两个复制叉前进的速度不一定相同。
4. 复制的速度取决于其起始。
5. 复制时每条链都由 5'-端向 3'-端延长。
6. 复制的过程是半不连续的。前导链是连续合成的;滞后链是不连续合成的,相邻近的 DNA 片段由连接酶连接成 DNA 新链。
7. DNA 复制是在 RNA 引物上起始的, RNA 引物以后被酶切除。
8. 复制可能有多种机制,即使在同一个细胞里,可能因环境——温度、营养条件、酶的丰富程度、dNTP 供应是否平衡、模板是否被外界因素损伤等的不同,复制也可以采用不同的方式。

二、逆转录作用(RNA 指导下的 DNA 合成)

有许多 RNA 病毒在敏感的动物里引起癌。这些病毒的特点是能在体外引起永久性的、可遗传的某些正常细胞至恶性癌细胞的转变。1964 年特明(N. M. Temin)提出前病毒假说,认为这些病毒的 RNA 含有癌基因,必须逆转录成 DNA 的形式(前病毒)才能成为掺入宿主细胞基因组的一个永久的、可遗传的部分,这是通过由致癌病毒 RNA 指导的 DNA 聚合酶的作用而成为可能的。但是按照传统的“中心法则”,遗传信息的传递只能由 DNA 传到 RNA 再传到蛋白质,因此前病毒假说并未能被当时的生物学界

所接受。直到1970年特明和巴尔的摩(D. Baltimore)分别在劳氏肉瘤病毒(RSV)和鼠白血病病毒(MLV)中找到了RNA指导的DNA聚合酶,特明的假说才被证实。由于RNA指导的DNA聚合酶催化遗传信息从RNA流向DNA,与转录作用正好相反,所以又称为逆转录酶(反向转录酶)。逆转录酶的发现使人们对遗传信息流动方向的认识有了新的发展,还促进了分子生物学、生物化学和病毒学研究的发展。

与DNA指导的DNA聚合酶的作用相似,逆转录酶催化的DNA合成反应需要RNA为模板,一个有3'-OH末端的多核苷酸引物,四种脱氧核苷三磷酸作为底物,还需要 Mg^{2+} 或 Mn^{2+} 离子。新的DNA链的合成也是从“引物”开始,沿着5'→3'方向进行。

在病毒逆转录酶和内源RNA组成的反应系统中,初期合成的产物是RNA-DNA杂交分子,随着反应时间的延长,又出现单链DNA和双链DNA。通过分子杂交实验证明,所合成的DNA是病毒RNA的“拷贝”。

现在知道,逆转录酶兼有依赖RNA的DNA聚合酶活性和依赖DNA的DNA聚合酶活性;此外还具有核糖核酸酶H的活性。核糖核酸酶H是专门水解RNA-DNA杂交分子中的RNA的酶。病毒粒子中还含有DNA连接酶。因此一般认为致癌RNA病毒使宿主细胞发生恶性转化的过程如图10-26所示。

病毒RNA基因组通过逆转录形成DNA(前病毒)并整合至宿主细胞染色体DNA中,此后,在宿主细胞内再经转录作用生成相应的信使RNA,不但合成宿主的各种蛋白质,也能合成病毒特异的某些蛋白质以及与细胞转化有关的蛋白质。

三、DNA的损伤与修复

一些物理化学因子如紫外线、电离辐射和化学诱变剂能使细胞DNA受到损伤,导致生物的突变或死亡。但在一定条件下,生

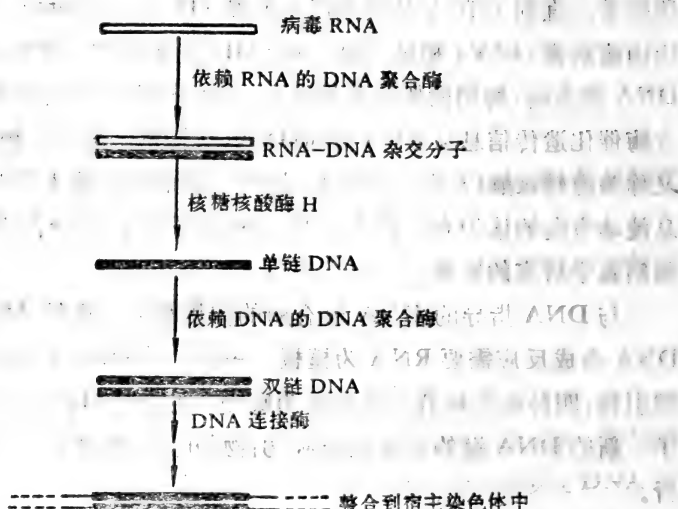


图 10-26 致癌 RNA 病毒使宿主细胞转化的示意图

物细胞能使其 DNA 的损伤得到修复。其中了解得较清楚的是因紫外光照射而引起 DNA 损伤的修复机制。

紫外线照射可以使 DNA 分子中同一条链上两个相邻的嘧啶碱基之间发生共价连接形成二聚体，其中以两个相邻的胸腺嘧啶碱基最易形成二聚体(图 10-27)。嘧啶二聚体不能再与互补链上的嘌呤碱基形成氢键，影响了 DNA 的双螺旋结构，使 DNA 的复制和转录功能受到阻碍。

一种修复系统称为光复活作用。其机制是可见光(最有效波长为 350nm 左右)激活了光复活酶，它能使嘧啶二聚体解聚。光复活作用是一种高度专一的修复方式，光复活酶只作用于紫外线引起的 DNA 嘧啶二聚体。光复活酶在生物界分布很广，从单细胞生物到鸟类都有。但在人体中仅在淋巴细胞及成纤维细胞中发现，所以光复活作用对于人体不是重要的修复方式。

另一种修复系统称为切除修复。它在生物界普遍存在，对多

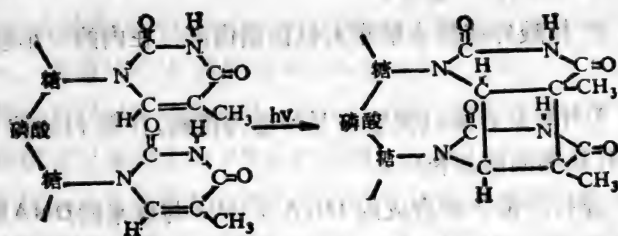


图 10-27 在紫外线影响下胸腺嘧啶二聚体的形成

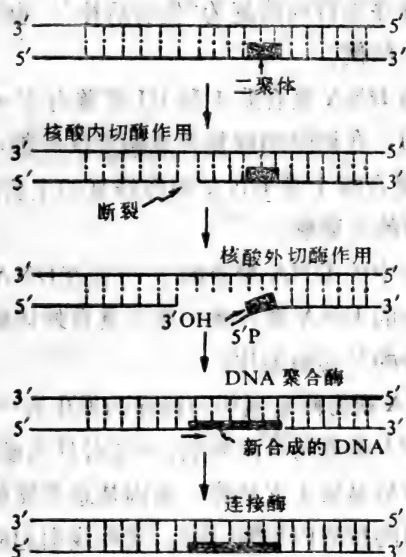


图 10-28 被紫外线损伤的 DNA 的复制

u.v. 产生二聚体，核酸内切酶和核酸外切酶连续作用把它除去，剩下一个短空隙，被 DNA 聚合酶填满，最终多核苷酸连接酶完成连接

种损伤均能起修复作用。切除修复由多种酶协同完成，共包括四个步骤(图 10-28)。

1. 特异的核酸内切酶与损伤部位结合，在损伤部位 5'-端邻

近的位置切断磷酸二酯键；

2. 5'-核酸外切酶水解除去包括损伤部位在内的一小段DNA单链；

3. DNA聚合酶以完整的互补链为模板，在断口处按 $5' \rightarrow 3'$ 方向进行局部的修复合成；

4. 连接酶催化新合成的DNA 3'-OH与原来的DNA断链的5'-磷酸基之间形成3',5'-磷酸二酯键而连接起来。从而完成修复过程。

按上述顺序进行的修复为“先切后补”；也可以“先补后切”，即步骤2和3颠倒。

大肠杆菌DNA聚合酶I和III都兼有 $5' \rightarrow 3'$ 聚合酶和 $5' \rightarrow 3'$ 外切酶活力，在切除和修复合成两步反应都可由一种酶催化。但一般认为聚合酶I是DNA损伤修复的主要酶，而聚合酶III则是DNA复制的主要酶。

真核细胞中的DNA聚合酶 β 可能在DNA损伤修复中起作用。真核细胞的DNA聚合酶一般不具有外切酶活力，推测切除作用是由另外的外切酶催化。

细胞DNA损伤修复系统与癌症的发生有一定关系。着色性干皮病是一种人类遗传性皮肤病，患者对日光或紫外线特别敏感，其皮肤受照射后易发生皮肤癌。原因是患者皮肤成纤维细胞中缺失了修复作用的核酸内切酶，因此，紫外线引起的DNA损伤不能修复。

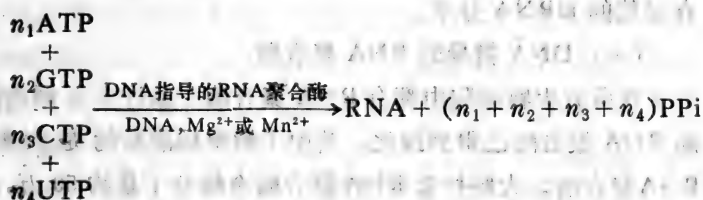
第四节 RNA的合成

细胞内的RNA绝大部分是在DNA模板上合成的，这种遗传信息从DNA分子传递到RNA分子的过程称为转录。除了这种依赖DNA的RNA合成外，在某些RNA病毒繁殖时还能以RNA作模板合成RNA，此过程称为RNA复制。此外，还发现多

核苷酸磷酸化酶无需模板而能催化合成多聚核苷酸,这样产生的RNA的总碱基比例取决于各种前体的比例,它不包含信息。

一、转录(DNA 指导的 RNA 合成)

转录是以DNA为模板,在DNA指导的RNA聚合酶催化下,由四种核苷三磷酸合成RNA的过程。模板DNA通过碱基配对相互作用以及蛋白质与核酸之间的特异相互作用决定转录产生的RNA分子的核苷酸残基的排列顺序。模板DNA与转录产物RNA的碱基配对关系是: dA-U、dG-C、dT-A、dC-G。聚合反应可用下式表示,



每一条RNA链的合成起始于DNA模板上一个特定位点,而在此模板的另一特定位点终止。也就是说,有确定的转录单位。转录的起始是由DNA的启动子(或称启动基因)控制的;而转录的终止则是由DNA的终止部位控制的。转录机构能识别DNA模板上的特异记号。

在活细胞的一个转录单位,基因的两条链中只有一条链起模板作用,被依赖DNA的RNA聚合酶转录为RNA,这条链被称为有意义链或编码链;另一条链无转录功能,被称为反意义链或非编码链。非编码链可能对转录起调节作用。各个基因的有意义链并不总是在DNA的同一条链上,即一条链上具有某些基因的有意义链和另一些基因的反意义链。

转录是一种有选择的过程,并不是整个DNA分子上的全部基因都同时被转录。在生命周期的不同阶段或不同的环境条件

下，特定的基因或者“启动”或者“关闭”。多种控制机构决定何时在既定细胞内的哪些基因被转录。这是微生物的高度适应性和高等生物细胞分化的基础。

转录的原始产物大多数是没有功能的 RNA 分子，它们必须经过加工才能成为有功能的成熟产物。原始转录产物称为 RNA 前体；加工过程中还可能产生各种中间前体；最后才可能得到有功能的 RNA 分子，它们包括 mRNA、tRNA 和 rRNA。和转录有关的加工称为“转录后加工”。不同种类的 RNA 前体的“转录后加工”各有差异。原核细胞 mRNA 一般不需要加工，转录产物就是有功能的 mRNA 分子。

(一) DNA 指导的 RNA 聚合酶

在所有生物细胞中都有 RNA 聚合酶。从许多不同来源得到的 RNA 聚合酶已得到纯化。其中了解得最清楚的是大肠杆菌 RNA 聚合酶。大肠杆菌 RNA 聚合酶全酶分子量约 50 万，由五个亚基($\alpha_2\beta\beta'\sigma$)组成。各亚基的大小和功能列于表 10-4。

表 10-4 大肠杆菌 RNA 聚合酶

亚 基	分 子 量	亚基数目	功 能
β'	165,000	1	和模板 DNA 结合
β	155,000	1	起始和催化部位
σ	95,000	1	起始作用
α	39,000	2	未知

σ 亚基与其他亚基结合较松，故把没有 σ 亚基的酶($\alpha_2\beta\beta'$)称为核心酶。核心酶具有使已开始合成的 RNA 链接 $5' \rightarrow 3'$ 方向延长的聚合酶活力，但不具有起始合成 RNA 的能力。而由 σ 亚基与核心酶组成的全酶则具有起始合成 RNA 的能力，因此把 σ 亚基

称为起始因子。 σ 亚基的作用是识别 DNA 分子上 RNA 合成的起始信号。但 σ 亚基不能单独与 DNA 结合,它与核心酶结合后可能引起酶构象的变化,因而改变了核心酶与 DNA 结合的特性。RNA 聚合酶的活性中心包含有 Zn^{2+} 。与 DNA 聚合酶的作用特点不同, RNA 聚合酶催化的合成反应不需要引物; RNA 聚合酶也没有校对功能。

当用天然双链 DNA 作模板时, RNA 聚合酶表现最强的活力;但它亦能以来自同种或异种生物的 DNA 为模板。RNA 聚合酶与 DNA 模板上特殊的启动子结合后才能发挥正常的聚合酶功能,转录产生与模板 DNA 有意义链互补的均一的 RNA 新链。RNA 新链的合成从 5'-端开始,第一个与模板结合的核苷酸常是 ATP 或 GTP。它们的 5'-三磷酸在转录过程中保持完整,不水解产生焦磷酸。RNA 聚合酶接着催化按 5'→3'方向的聚合反应,向已与模板结合的核苷酸的 3'-OH 端逐个添加核苷酸,同时释放焦磷酸。DNA 指导的 RNA 合成如图 10-29 所示。

原核细胞仅含有一种类型的 RNA 聚合酶,能催化所有类别

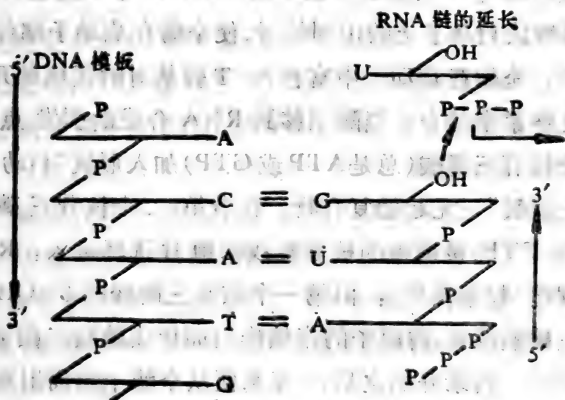


图 10-29 DNA 指导的 RNA 合成

RNA的生物合成。在动物、高等植物和真菌细胞中有多种形式的RNA聚合酶。它们由4—14个亚基组成,亚基的种类为4—6种,其中二种为大亚基(分子量 $100-200 \times 10^3$),其余为小亚基。根据对特异抑制剂 α -鹅膏蕈碱的敏感性把真核细胞RNA聚合酶分为三类,如表10-5所示。

表 10-5 真核细胞 RNA 聚合酶的种类和性质

RNA 聚合酶	I (或 A)	II (或 B)	III (或 C)
别 名	rRNA 聚合酶	不均一-RNA聚合酶	小分子RNA聚合酶
细胞内位置	核 仁	核 质	核 质
转录产物(前体)	rRNA	mRNA	rRNA, 5SRNA
α -鹅膏蕈碱效应	不敏感	高度敏感	中度敏感

(二) 原核细胞的转录作用

原核细胞的转录作用分三个阶段进行(图 10-30)

1. 转录的起始

核心酶与 σ 亚基结合成全酶与DNA分子接触,由全酶上的 σ 亚基辨认启动子上的识别信号,使全酶在启动子部位与DNA外部结合。全酶在启动子中富含A-T碱基对的区域解开双链,并与有义链紧密结合。当酶漂移到RNA合成的引发点(起始点),第一个核苷三磷酸(总是ATP或GTP)加入形成“启动子·全酶·核苷三磷酸”三元起始复合物。接着第二个核苷三磷酸(通常是UTP或CTP)按模板的核苷酸残基顺序选择进入。RNA聚合酶全酶催化“起始反应”:由第一个核苷三磷酸的3'-OH对第二个核苷三磷酸的 α -磷原子的亲核作用而形成磷酸二酯键,同时释放焦磷酸。转录开始之后, σ 亚基便从全酶中解离出来,与另一核心酶结合,开始另一转录过程。

2. RNA 链的延伸

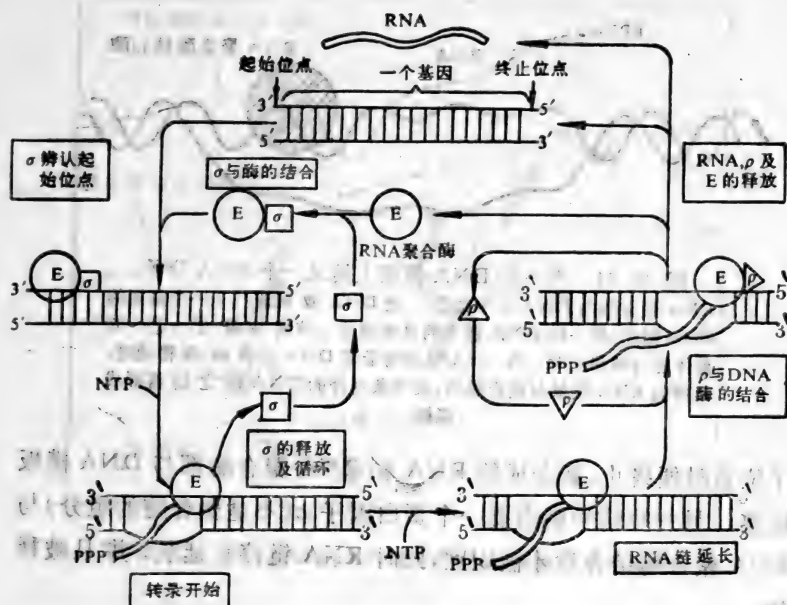


图 10-30 大肠杆菌转录过程的示意图

起始反应完成以后,核心酶沿有意义链按 $3' \rightarrow 5'$ 方向滑行,同时根据有意义链的核苷酸残基排列顺序选择相应的核苷三磷酸底物,并通过亲核反应使 RNA 链逐渐延长。RNA 链的合成方向是 $5' \rightarrow 3'$ 。当核心酶沿模板链移动时,DNA 解旋区也随酶一起移动。在链的延伸过程中,转录叉上新生的 RNA 的一小段与模板 DNA 形成约 12 对核苷酸残基的过渡的互补杂种 RNA-DNA 双螺旋,但此杂种双螺旋不稳定,新的 RNA 链倾向于从 DNA 模板上分离出来,而解开的 DNA 双链则重新形成双螺旋(图 10-31)。

3. 转录的终止

DNA 分子上有终止转录的核苷酸序列信号,称为终止子。这些信号中有一些能被 RNA 聚合酶本身所识别,转录进行到终止

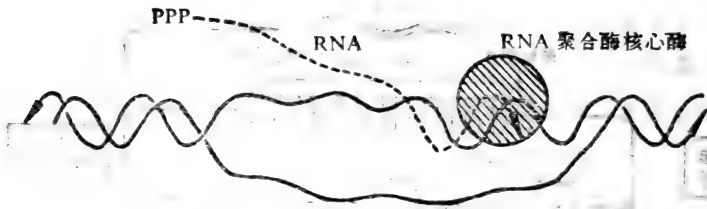


图 10-31 在一股 DNA 模板上转录一个 RNA 分子。
RNA 聚合酶与 DNA 分子结合，使 DNA 双螺旋打开一个很短的部分，因此，使一股 DNA 链上的自由碱基与核糖核苷- $\text{P} \sim \text{P} \sim \text{P}$ 前体进行碱基配对。当 RNA 聚合酶沿着 DNA 模板向前移动时，延伸的 RNA 链就与模板脱离，使两条互补的 DNA 链之间再形成氢键

子位置时便终止，新合成的 RNA 和 RNA 聚合酶都与 DNA 模板脱离。另一些信号则需要一个蛋白因子 ρ (不是聚合酶的组分) 与 RNA 聚合酶结合后才被识别，此时 RNA 链停止延长，并且被释放。

(三) 真核细胞的转录作用

真核细胞 RNA 聚合酶的性质与大肠杆菌的 RNA 聚合酶相似。大多数真核细胞中的核 RNA 聚合酶可能有 I、II、III 三类(见表 10-5)。线粒体和叶绿体中也有 DNA 指导的 RNA 聚合酶。它们催化 RNA 链延伸的方式与大肠杆菌 RNA 聚合酶类似。但对真核细胞 DNA 终止子了解甚少。

真核细胞的转录作用产物都是分子量较大的 RNA 前体，需要在特异的酶作用下才能转变为有活性的 RNA。

(四) 转录过程的直接观察

电子显微镜为我们直接观察转录过程提供了可能性。图 10-32 是大肠杆菌内的转录和随之而来的翻译。图象说明转录把 DNA 上的一些信息以 mRNA 的形式转录了许多次，这是对遗传信息的放大；原核细胞的 mRNA 一般不需要加工，往往 mRNA 还未



图 10-32 在 *E. Coli* 内的转录和随之而来的翻译示意图，
文中有说明

转录完全就被用作模板开始合成蛋白质，所以转录与翻译是偶联在一起的，在蛋白质合成中，每一个 mRNA 模板都被应用多次，这是对遗传信息的又一次放大。（参阅第十一章）

图 10-33 是一个两栖类卵细胞核仁的 rRNA 基因转录过程的电子显微镜照相示意图。图中核心纤维是包着蛋白质的 DNA，纤羽状细丝是延伸着的 RNA 链，它们很可能被蛋白质包裹着。rRNA 基因的一个转录单位长度约 2 至 3 μm ，约相当于为真核细胞 18S、5.8S 和 28S rRNA 的 41S rRNA 前体编码所需的 DNA 的长度。在图中的转录单位上正在同时转录合成约 100 股 rRNA 链。每一条 rRNA 链是由一个 RNA 聚合酶分子沿着基因的 3' \rightarrow 5' 方向移动而合成的。RNA 细丝基部的颗粒就是 RNA 聚合酶。

（五）转录产物的“加工”



图 10-33 一个两栖类卵细胞的核仁基因的电子显微镜照相示意图。

核糖体 RNA 密码的基因在转录成为 rRNA, 当 RNA 聚合酶分子沿着基因移动时约有 100 股 rRNA 同时形成。在 RNA 分子 5' 端的粒子的作用不明

除原核细胞的 mRNA 外, 由 DNA 指导的 RNA 聚合酶从 DNA 模板转录生成的各种 RNA 是未具有生物功能的分子量较大的原始转录产物, 称为 RNA 前体。RNA 前体需要经过特异的酶的作用, 切除多余部分或进行修饰才能成为有功能的产物——成熟的 mRNA、tRNA 和 rRNA, 这个过程称为“转录后加工”或 RNA 的成熟过程。

转录后加工包括三方面的内容:

1. “剪裁”和“剪接”。就是通过一些剪切的机制来改变原始转录产物的长度。例如哺乳动物细胞的 28 S、18 S 和 5.8 S rRNA 在转录过程中先形成共同的 45 S 大分子前体, 然后被剪裁成相应的 rRNA。它们的关系及剪裁步骤如图 10-34 所示。

2. 由修饰酶类对 RNA 前体上的某些碱基进行化学修饰。修饰酶具有高度的特异性, 一般来说, 每种修饰核苷都有催化其合成的特异的修饰酶。例如 tRNA(鸟嘌呤-7)甲基化酶可使 tRNA 中的鸟苷(G)转变为 7-甲基鸟苷(m^7G)。tRNA ψ 合成酶

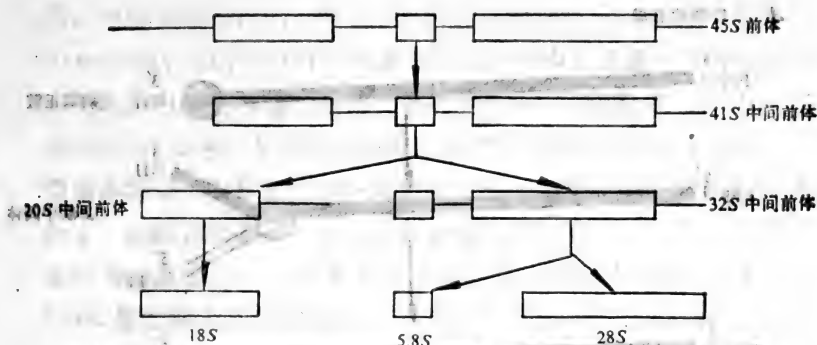


图 10-34 HeLa 细胞 rRNA 前体的加工方式

催化尿苷(U)转变为假尿苷(ψ)。

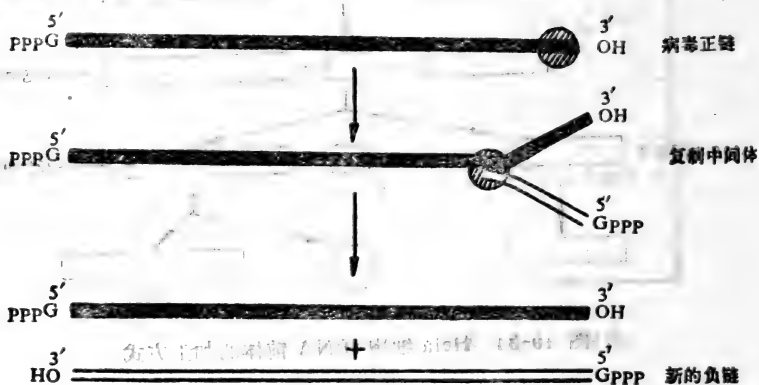
3. 加上特殊的核苷酸顺序。例如在多聚A聚合酶催化下在 mRNA 前体已被修剪过的 3'-末端附加上多聚A尾巴。又如某些缺乏3'-CCAAOH末端的 tRNA 前体在 tRNA 核苷酰转移酶催化下,以 CTP 和 ATP 为原料,在 3'-末端附加上 CCAAOH末端。

二、RNA 复制(RNA 指导的RNA合成)

在大多数生物中,DNA 是主要的遗传物质,通过 DNA 复制把遗传信息传递给子代。而在某些 RNA 病毒,遗传物质却是 RNA,它也能通过复制而合成出与自身相同的分子。对于 RNA 复制机理的了解主要来自以感染各种 RNA 病毒的大肠杆菌为材料的大量研究工作。

$Q\beta$ 、 MS_2 、 R_{17} 、 f_2 等 RNA 病毒都是大肠杆菌噬菌体。当它们侵入寄主细胞后即可由 RNA 复制酶(RNA 指导的 RNA 聚合酶)催化进行病毒 RNA 的复制。RNA 复制酶不存在于正常的寄主细胞,只有 RNA 病毒感染的细胞才会产生 RNA 复制酶。RNA 复制酶以病毒 RNA 为模板,四种核苷三磷酸为底物,在有 Mg^{2+} 存在时催化合成与模板性质相同的 RNA。复制酶对模板的特异

A 负链的合成



B 正链的合成

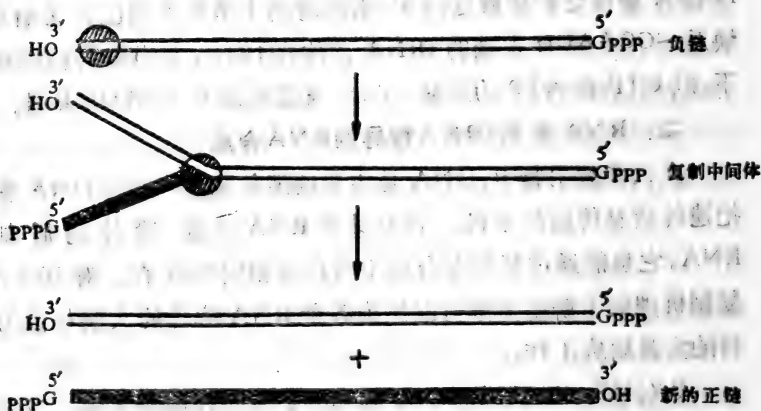


图 10-35 噬菌体 $Q\beta$ RNA 的合成

性很高,它只识别病毒自身的 RNA,而对宿主细胞的 RNA 及其类似的噬菌体 RNA 均无反应。

下面以大肠杆菌噬菌体 $Q\beta$ 为例扼要介绍 RNA 复制的过

程。当噬菌体 $Q\beta$ 的 RNA 侵入大肠杆菌细胞后,其 RNA 本身即为 mRNA,可以利用宿主的蛋白质合成机构直接进行与病毒繁殖有关的蛋白质的合成。通常把具有 mRNA 功能的病毒 RNA 链称为正链,而它的互补链为负链。故噬菌体 $Q\beta$ RNA 为正链。在噬菌体特异的 RNA 复制酶装配好后不久,酶就吸附到正链 RNA 的 3'-末端,以正链 RNA 为模板合成出负链 RNA。新 RNA 链合成的方向是 $5' \rightarrow 3'$ 。负链合成结束时即从模板上释放。同样的 RNA 复制酶又吸附到负链的 3'-末端,并以负链为模板合成正链(图 10-35)。新合成的正链就是 RNA 复制的产物,它与有关的病毒蛋白质组装成正常的子代噬菌体 $Q\beta$ 。

RNA 病毒的种类很多,其繁殖方式也是多种多样的,归纳起来有两大类型。一种类型以噬菌体 $Q\beta$ 为代表,是以病毒 RNA 直接作为模板复制出病毒 RNA。另一种类型称为逆转录病毒,例如劳氏肉瘤病毒,是以病毒 RNA 为模板逆转录产生 DNA,然后再以此 DNA 为模板转录出病毒 RNA(见本章第三节二,逆转录作用)。

思考题

1. 比较嘌呤核苷酸与嘧啶核苷酸从头合成途径的主要特点。
2. 用实验证明 DNA 的复制方式是半保留复制。
3. 讨论原核细胞 DNA 的复制过程。
4. 试讨论逆转录酶的作用。
5. DNA 损伤的切除修复机制如何?
6. 讨论大肠杆菌 DNA 指导的 RNA 聚合酶在转录过程中的作用。
7. 何谓有意义链和反意义链?

第十一章 蛋白质代谢

蛋白质在酶催化下,分解成肽,再分解成各种氨基酸,最后氨基酸进一步分解成氨及其他代谢产物。蛋白质怎样转化成氨基酸?生物体中的氨基酸怎样分解和合成?氨基酸又怎样合成蛋白质?这就是本章要讨论的主要内容。

第一节 蛋白质的分解代谢

一、蛋白质的酶促降解

人或动物吃了蛋白质食物后,因为唾液中没 有消化蛋白质的酶,所以蛋白质的消化从胃中开始,蛋白质在胃里受到胃蛋白酶的作用,分解为分子量较小的肽,这些肽进入小肠后,受到来自胰脏的胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶的作用,进一步分解为更小的肽(胃蛋白酶、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶都是肽链内切酶,水解肽链内的肽键)。小肽又被胰腺分泌的羧肽酶和肠粘膜里的氨肽酶和二肽酶的作用,分解成氨基酸(羧肽酶和氨肽酶是肽链外切酶,羧肽酶水解羧基端的肽键,氨肽酶水解氨基端的肽键,二肽酶水解二肽)。氨基酸由肠粘膜表皮细胞吸收入血液进入肝脏,肝脏是氨基酸进行各种代谢的重要器官,氨基酸进入肝脏通过血液循环输送到全身各个器官或组织。在某些特殊情况下,例如蛋白酶受到抑制或消化液中蛋白酶浓度过低时,少量的蛋白质也会被直接吸收进入血液,这可能就是发生食物蛋白过敏的原因。

微生物也含蛋白酶,微生物蛋白酶可分细胞内蛋白酶和细胞

外蛋白酶。凡能利用蛋白质的微生物也象人一样分泌出蛋白酶,蛋白酶将培养基里的蛋白质分解为氨基酸,吸收到细胞里去。栖土曲霉和枯草杆菌分泌大量蛋白酶,工业上采用这些菌种进行培养,制备蛋白酶制剂。

植物体的蛋白质是由植物本身合成的,合成后存留在各种器官、组织和细胞内,一般种子中含量较高。植物体内也含蛋白酶,可分成种子的蛋白酶、叶和芽的蛋白酶,果实的蛋白酶。植物种子萌芽时,蛋白质的酶促降解最活跃。

二、氨基酸的分解代谢

蛋白质均由 α -氨基酸组成,每种氨基酸都有 α -氨基和羧基,因此各种氨基酸的分解代谢有着共同的代谢途径。此外,由于不同氨基酸有不同的侧链基团,所以每种氨基酸还有特殊的代谢途径,本教材仅介绍共同的代谢途径,对个别氨基酸的代谢途径不作介绍。

(一) 氨基酸的脱氨基作用

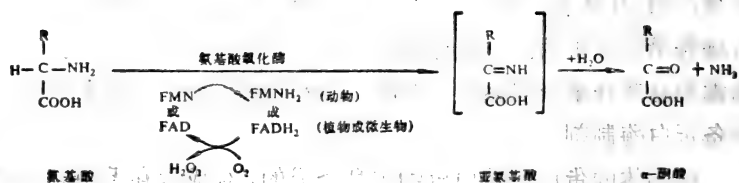
氨基酸可在酶的催化下脱去氨基。脱氨基作用按照脱去氨基的方式可分为氧化脱氨作用、转氨基作用和联合脱氨作用三种。

1. 氧化脱氨作用

α -氨基酸在酶的催化下氧化生成 α -酮酸,并产生氨,此过程称氧化脱氨基作用。

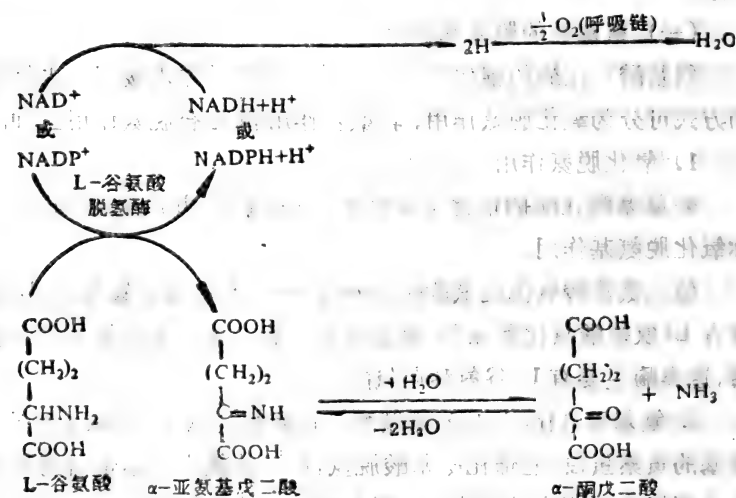
催化氨基酸氧化脱氨的酶有两类,一类是氨基酸氧化酶,这类酶有L-氨基酸氧化酶和D-氨基酸氧化酶。另一类是氨基酸脱氢酶,这类酶主要有L-谷氨酸脱氢酶。

L-氨基酸氧化酶和D-氨基酸氧化酶都是以FAD或FMN为辅基的黄素蛋白,它催化氨基酸脱氢,脱下的氢由黄素蛋白携带并转交到氧分子形成过氧化氢,再由细胞内过氧化氢酶分解为 H_2O 和 O_2 ,氨基酸脱氢而生成不稳定中间物亚氨基酸,亚氨基酸在水溶液中水解为 α -酮酸和氨。



由于L-氨基酸氧化酶在生物体的分布不普遍，最适的pH值为10左右，在生理pH条件下，活力低；D-氨基酸氧化酶在生物体中的分布虽然较广泛，活力亦强，但自然界的氨基酸大多数是L-氨基酸，因此这个酶催化脱氨基的作用意义不大。

L-谷氨酸脱氢酶的辅酶是NAD⁺或NADP⁺，能催化L-谷氨酸转变成 α -酮戊二酸及氨，这种酶活性强，最适pH为7，脱氢后氢原子经呼吸链传递给O₂，生成水。L-谷氨酸脱氢酶的氧化脱氨作用如下。



上述的反应是可逆的，这类酶也能催化 α -酮戊二酸和氨反应生成谷氨酸，目前的味精生产就是根据这一反应的原理，利用微生物

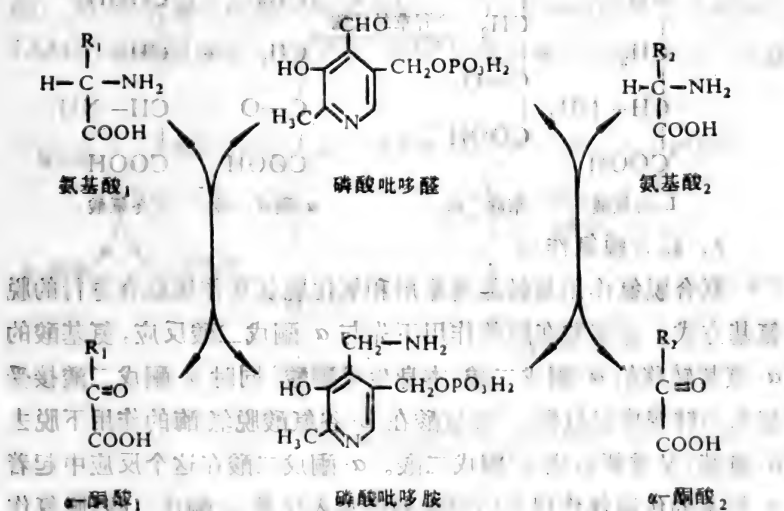
物体所产生的谷氨酸脱氢酶使 α -酮戊二酸转变成谷氨酸。

L-谷氨酸脱氢酶催化的氧化脱氨基作用在动物、植物以及大多数的微生物体内都普遍地存在。

某些微生物中尚有非氧化脱氨,如还原脱氨、水解脱氨、脱水脱氨和脱巯基脱氨等,本书不作介绍。

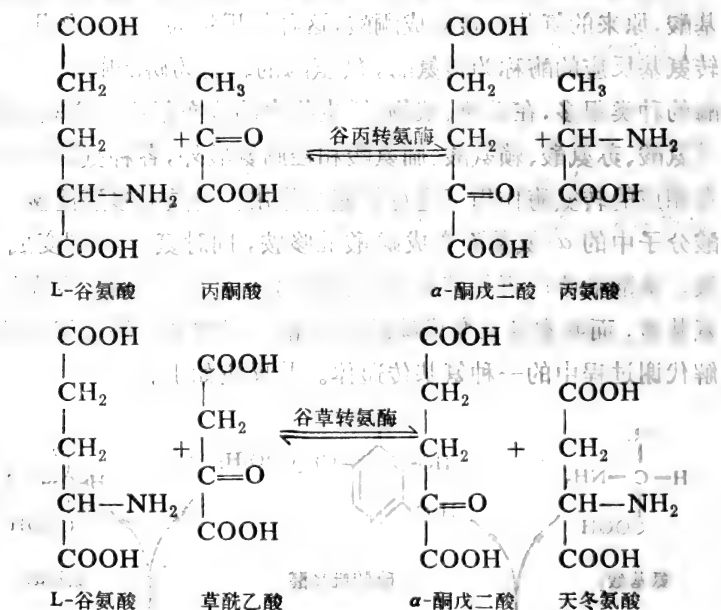
2. 转氨基作用

α -氨基酸的氨基通过酶促反应,转移给 α -酮酸,形成新的氨基酸,原来的氨基酸转变成酮酸,这种作用称为转氨基作用。催化转氨基反应的酶称为转氨酶,转氨酶的辅酶为磷酸吡哆醛。转氨酶的种类很多,在动物、植物、微生物中的分布很广。实验证明,除甘氨酸、苏氨酸、赖氨酸、脯氨酸和羟脯氨酸外,各种氨基酸都可以在相应的转氨酶作用下进行转氨基作用。磷酸吡哆醛能接受氨基酸分子中的 α -氨基而变成磷酸吡哆胺,同时氨基酸则变成 α -酮酸。磷酸吡哆胺再将其氨基转移给另一分子 α -酮酸,生成另一种氨基酸,而其本身又变成磷酸吡哆醛。磷酸吡哆醛是氨基酸的分解代谢过程中的一种氨基传递体。其反应如下。



转氨作用是一种可逆反应。由糖代谢产生的丙酮酸、草酰乙酸及 α -酮戊二酸可分别转变为丙氨酸、天冬氨酸及谷氨酸；同时，丙氨酸、天冬氨酸及谷氨酸也可转变为丙酮酸、草酰乙酸及 α -酮戊二酸，参加三羧酸循环，从而沟通了糖与蛋白质的代谢。

人的肝脏内，谷丙转氨酶(GPT)的活力较强，肝炎病人因为肝细胞受损害，转氨酶由肝脏释放到血液中，使血清的转氨酶活性增高，临床上测定血清中转氨酶活力常作为诊断肝功能的指标之一。



3. 联合脱氨作用

联合脱氨作用是转氨基作用和氧化脱氨基作用联合进行的脱氨基方式。氨基酸在酶的作用下先与 α -酮戊二酸反应，氨基酸的 α -氨基转移给 α -酮戊二酸，本身生成酮酸，同时 α -酮戊二酸接受氨基而转变成谷氨酸。谷氨酸在 L-谷氨酸脱氢酶的作用下脱去 α -氨基，又重新形成 α -酮戊二酸。 α -酮戊二酸在这个反应中起着 α -氨基的传递体作用。组织中如果加入少量 α -酮戊二酸，脱氨作

用即明显加速。由于肝脏等组织内 L-谷氨酸脱氢酶 含量较多,活力也高,转氨酶活力也强,因此,在这些组织中联合脱氮作用是氨基酸脱氨基的重要方式,



因为骨骼肌肉中 L-谷氨酸脱氢酶含量少,但腺苷酸脱氨酶、腺苷酸琥珀酸合成酶和腺苷酸琥珀酸裂解酶含量高、活力大、故有人认为在这些组织中的脱氮方式不是上述的联合脱氨基方式而是另一种形式的联合脱氨基即称为嘌呤核苷酸循环。在这过程中,各种氨基酸通过连续转氨基作用将氨基先转移到草酰乙酸,生成天冬氨酸,天冬氨酸和次黄嘌呤核苷酸(IMP)作用生成腺苷酸琥珀酸,后者在腺苷酸琥珀酸裂解酶的作用下裂解成腺嘌呤核苷酸(AMP)和延胡索酸,AMP在AMP脱氨酶的作用下水解产生氨

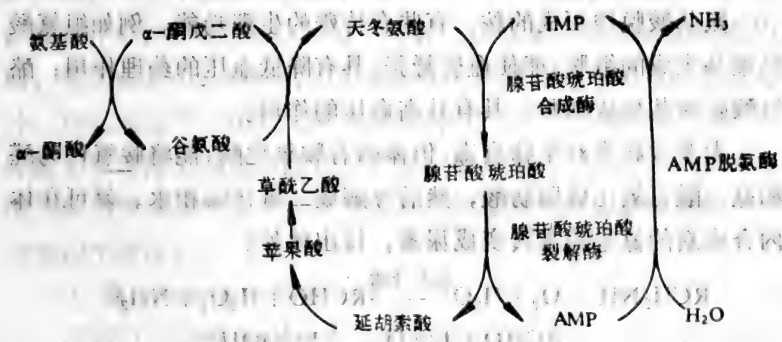
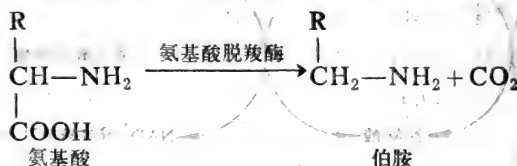


图 11-1 嘌呤核苷酸循环

和 IMP, 见图 11-1。

(二) 脱羧作用

氨基酸的脱羧作用是氨基酸分解代谢的另一种共同途径。氨基酸在脱羧酶作用下脱去羧基后形成伯胺和二氧化碳。这个反应, 除组氨酸脱羧酶以外, 都以磷酸吡哆醛作为辅酶。



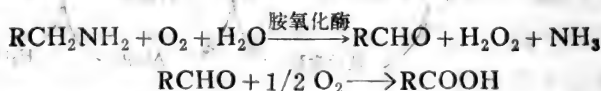
氨基酸脱羧酶的专一性很高, 除个别脱羧酶外, 一种氨基酸脱羧酶一般只对一种氨基酸起作用。

微生物、高等动植物的组织中普遍存在氨基酸脱羧酶, 动物的肝、肾、脑也有氨基酸脱羧酶, 但在正常生理状态下, 脱羧作用不是氨基酸分解代谢的主要方式。

氨基酸脱羧酶广泛分布于细菌体内, 人和动物肠道中的细菌, 也有脱羧酶, 能使氨基酸脱羧生成有毒性的尸胺(赖氨酸脱羧)、腐胺(鸟氨酸脱羧)。动物尸体腐烂时, 发出的臭味主要是来自尸胺和腐胺。

氨基酸脱羧形成的胺, 有些有特殊的生理功能。例如组氨酸脱羧基生成的组胺, 能使血管舒张, 具有降低血压的药理作用; 酪氨酸脱羧基生成酪胺, 具有升高血压的作用。

大多数胺类对生物有毒, 但体内有胺氧化酶, 能将胺氧化为醛和氨。醛可氧化成脂肪酸, 然后分解成二氧化碳和水。氨可在体内合成新的氨基酸或转变成尿素, 排出体外。



(三) 氨和 α -酮酸的代谢

氨基酸经转氨和脱氨产生的 α -酮酸和氨是氨基酸代谢的主要中间产物，它们在体内有各自的代谢转变途径。

1. 氨的代谢去路

氨是有毒的，在体内不能大量积存，不同的生物，氨的代谢去路是不同的。有的生物可以将氨直接排出，有的把氨转变成尿素或变成尿酸后再排出。有的把氨转变成谷氨酰胺或天冬酰胺储存起来。各种动物排氨的方式见表 11-1。

表 11-1 各种动物的排氨方式

动物类别	排氨方式
水生动物	将氨直接排出(个别例外)
两栖动物	将氨变成尿素排出
鸟类及爬行动物	将氨变成尿酸排出
陆栖高等动物	将氨变成尿素排出

植物不合成尿素。植物和动物中部分的氨可变成酰胺储存。

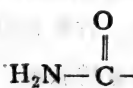
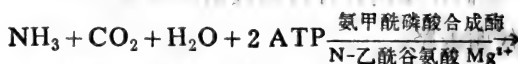
(1) 尿素的形成

肝脏是合成尿素的主要器官，德国的克雷布斯(Krebs)等最早研究动物组织中尿素的形成，发现大鼠在有充足的能量供应时，鼠肝碎片能把 NH_3 和 CO_2 按 2:1 转变成尿素。肝脏形成尿素以后，排到血液中，再经肾把血液中的尿素滤出并形成尿液排出体外。利用动物器官切除试验，也证明肝脏是尿素合成的主要器官，肾脏是尿素排出的主要器官。根据一系列实验，1932 年，克雷布斯总结出尿素合成途径。这途径称为尿素循环或鸟氨酸循环，可分为四个阶段。

① 氨甲酰磷酸的生成

在氨甲酰磷酸合成酶(存在于肝细胞线粒体内)催化下，氨基酸脱氨基生成的氨与 CO_2 、ATP 相互反应生成氨甲酰磷酸。氨甲

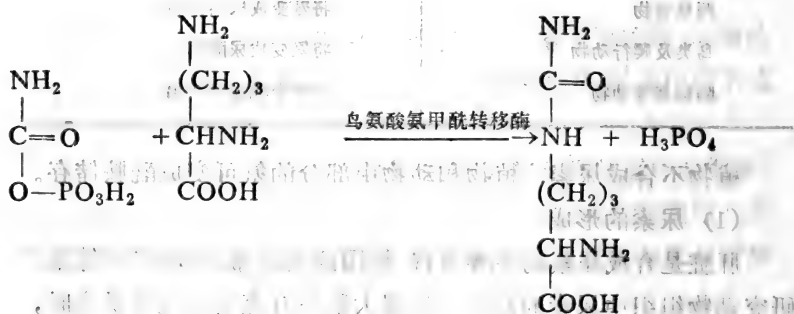
酰磷酸合成酶需要 N-乙酰谷氨酸作辅助因子。



氨甲酰磷酸

② 瓜氨酸的生成

在线粒体内,在鸟氨酸甲酰转移酶的催化下,将氨甲酰基转移给鸟氨酸,生成瓜氨酸。

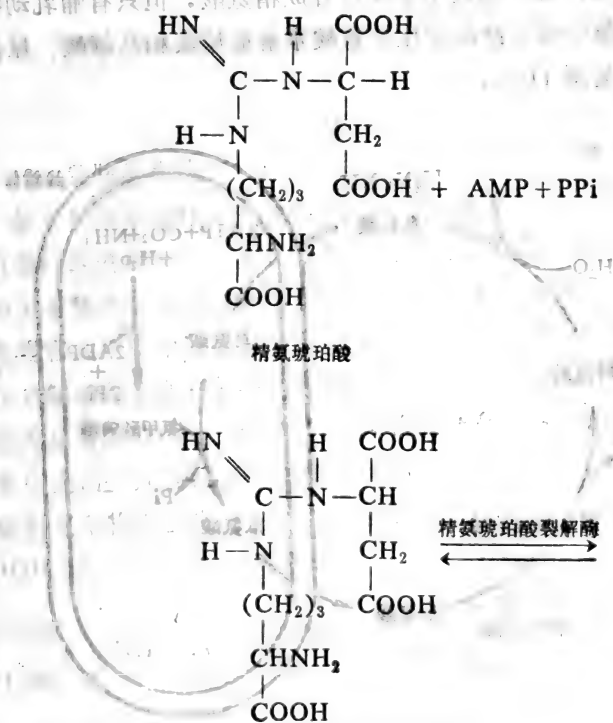
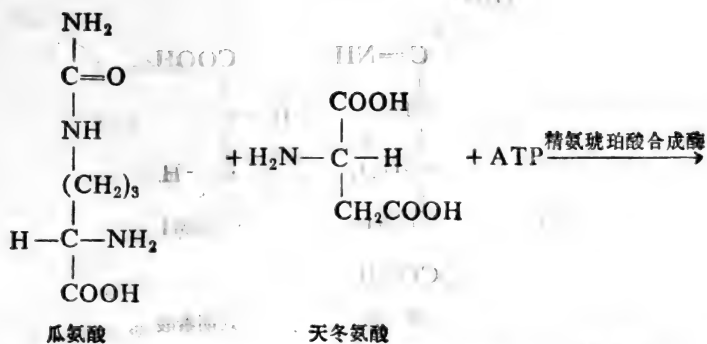


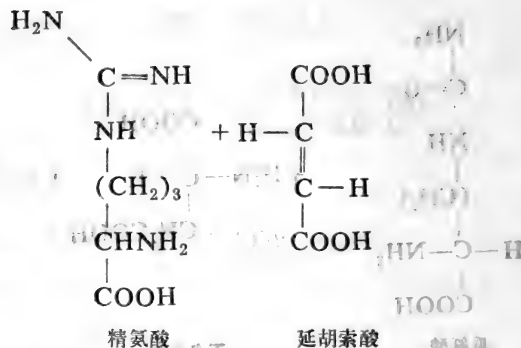
氨甲酰磷酸 L-鸟氨酸

L-瓜氨酸

③ 精氨酸的生成

瓜氨酸在线粒体内形成后通过载体转运至胞液中,由精氨琥珀酸合成酶催化,在有 ATP 参与下,瓜氨酸和天冬氨酸缩合成精氨琥珀酸,然后精氨琥珀酸在精氨琥珀酸裂解酶催化下,生成一分子延胡索酸和一分子精氨酸。延胡索酸经三羧酸循环变成草酰乙酸,经转氨作用接受氨基再形成天冬氨酸。所以天冬氨酸在尿素生成中起转运氨基的作用。





④ 精氨酸水解成尿素和鸟氨酸

所有动物都能通过上述反应合成精氨酸，但只有哺乳动物肝中具有精氨酸酶，此酶催化精氨酸水解成尿素和鸟氨酸。尿素合成的过程见图 11-2。

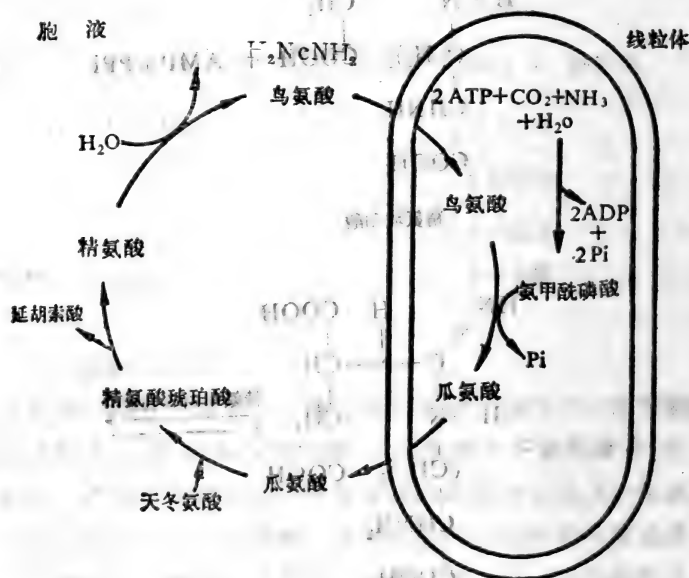
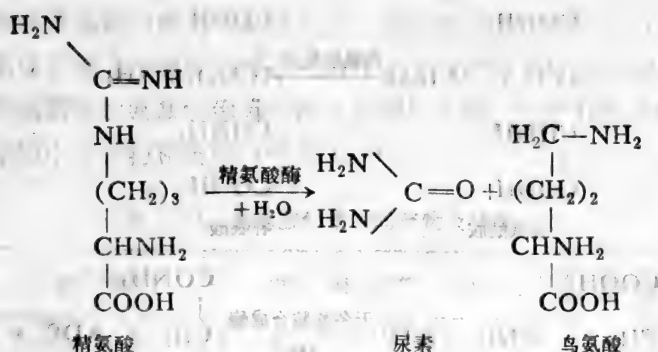
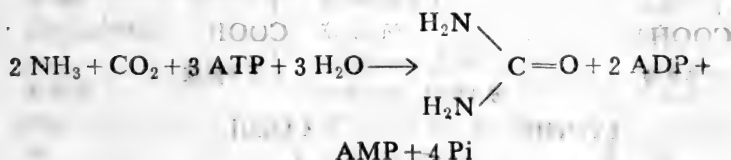


图 11-2 尿素循环

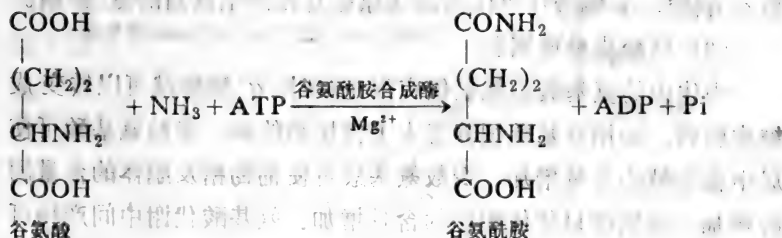


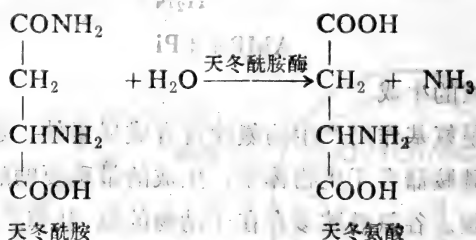
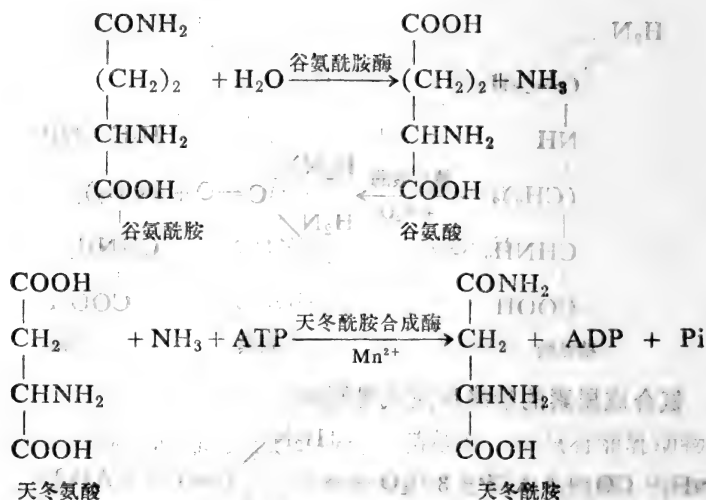
氨合成尿素的最终反应式可写成:



(2) 酰胺的生成

氨基酸脱氨基作用产生的氨除可合成尿素外,还可以转变成没有毒性的酰胺储存于生物体中,生成的最重要的酰胺是谷氨酰胺和天冬酰胺。谷氨酰胺多存在于动物的脑、肝和肌肉,它可以从这些器官或组织中通过血液而输入肾脏,在肾脏经谷氨酰胺酶的作用分解成谷氨酸和氨,这时的氨是尿中氨的重要来源,一般占尿中氨的总量的60%。天冬酰胺在植物体储存较多,是植物储氨的重要形式,它可以由天冬酰胺酶的作用再分解成氨和天冬氨酸,天冬酰胺在动物中虽也能生成,但不重要。





2. α -酮酸的代谢

氨基酸脱氨以后生成 α -酮酸, 有三种代谢途径。

(1) 合成新的氨基酸

α -酮酸在转氨酶催化下从氨基酸接受氨基生成新的氨基酸和 α -酮酸。 α -酮酸还可以通过还原氨基化而生成新的氨基酸。

(2) 转变成糖或脂肪

当体内的氨基酸和能量供应很充足时, α -酮酸就可以转变成糖或脂肪。如用氨基酸饲养患人工糖尿病的狗, 多数氨基酸可使尿中葡萄糖的含量增加, 少数氨基酸可使葡萄糖及酮体的含量同时增加, 亮氨酸只能使酮体的含量增加。氨基酸代谢中间产物可

以转变成葡萄糖的称为生糖氨基酸；氨基酸代谢中间产物可以转变成酮体的称为生酮氨基酸；分解代谢中间产物能转变成糖也可以转变成酮体的氨基酸称为生糖兼生酮氨基酸。二十种氨基酸分解代谢的中间产物和类型列于表 11-2。

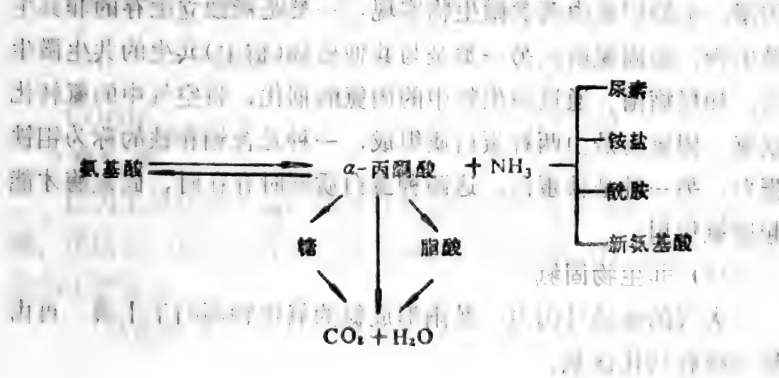
表 11-2 氨基酸代谢中间产物及类型

氨基酸 (简称)	中间产物	生糖 或 生酮氨基酸
丙、丝、半胱、胱、甘、苏、精、脯、组、谷、谷氨酰胺	丙酮酸	生糖
蛋、缬	α -酮戊二酸	生糖
天冬、天冬酰胺	琥珀酰辅酶A	生糖
亮	草酰乙酸	生糖
苯丙、酪	乙酰辅酶A、乙酰乙酸	生酮
异亮	乙酰乙酸、延胡索酸	生糖兼生酮
赖	琥珀酰辅酶A、乙酰辅酶A	生糖兼生酮
色	乙酰乙酰辅酶A	生酮
	乙酰乙酸、丙酮酸	生糖兼生酮

(3) 氧化成二氧化碳和水

α -酮酸可以通过三羧酸循环彻底氧化成二氧化碳和水，同时释放出机体所需的能量。

氨基酸的分解代谢归纳如下。



第二节 蛋白质合成代谢

氨基酸是合成蛋白质的原料，也是很多含氮化合物的前体，例如天冬氨酸、甘氨酸和谷氨酰胺参与核苷酸合成，一些植物碱是赖氨酸、色氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸的衍生物。

一、氨基酸的生物合成

不同生物获得氨基酸的来源各不相同。氨基酸合成时要有氮和碳骨架，从生物界的宏观来看，动物体的氮是来自植物体的蛋白质或非蛋白质的含氮化合物。植物的氮源主要来自空气中的氮和土壤中的氨、铵盐、亚硝酸盐和硝酸盐。碳骨架是各种 α -酮酸，一般来自糖类、脂肪、氨基酸和其他有机物质代谢的中间产物。植物和大多数微生物通过代谢可以合成各种 α -酮酸，进而合成全部氨基酸。但人和动物不能合成全部氨基酸，有些氨基酸必须由食物提供，这些氨基酸称为“必需氨基酸”。各种氨基酸生物合成的途径是不同的，现在介绍氨基酸合成的基本途径。

(一) 氨基酸合成时的氮和 α -酮酸的来源

1. 氮的来源

(1) 生物固氮作用合成氨

微生物把空气中的分子氮转化为氨态氮的作用称为生物固氮作用。生物固氮由两类微生物实现：一类是能独立生存的非共生微生物，如固氮菌；另一类是与其他植物(宿主)共生的共生微生物，如根瘤菌。通过微生物中的固氮酶催化，将空气中的氮转化成氨，固氮酶是由两种蛋白质组成，一种是含钼和铁的称为钼铁蛋白；另一种是铁蛋白，这两种蛋白质同时存在时，固氮酶才能起固氮作用。

(2) 非生物固氮

大气的氮通过闪电、暴雨形成氮的氧化物而归于土壤。再由植物吸收转化成氨。

2. α -酮酸的来源

糖、脂肪和氨基酸分解代谢过程中，都可以产生 α -酮酸，其中以丙酮酸、草酰乙酸和 α -酮戊二酸为最重要。植物和多数微生物能合成作为各种氨基酸碳架的各种 α -酮酸。而人和动物从食物中获得合成氨基酸所需要的 α -酮酸。

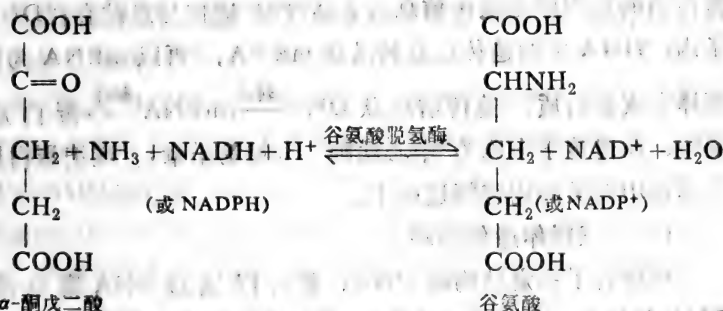
(二) 氨基酸的合成

按氨基酸合成的方式，一般分为还原氨化、转氨和氨基酸相互转化三种方式。

1. 还原氨化

α -酮酸和氨作用生成亚氨基酸， α -亚氨基酸被还原成 α -氨基酸，这一反应称为还原氨化过程，这反应可以看成是氨基酸氧化脱氨的逆反应。

用 ^{15}N 标记的 NH_3 来研究还原氨化的实验证明，生物体内最先发生还原氨化作用的 α -酮酸是 α -酮戊二酸，催化这一反应的酶是谷氨酸脱氢酶，它的辅酶在动物体内为 NAD^+ 或 NADP^+ ，在植物体内为 NADP^+ 。



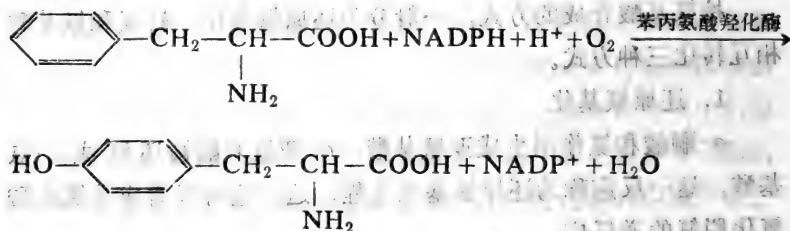
因为生物体中普遍存在谷氨酸脱氢酶，而且这种酶的活力很强，所以这一反应是许多生物直接由 α -酮酸和 NH_3 形成 α -氨基酸的主要途径。

2. 转氨作用

谷氨酸的氨基可以由转氨酶催化转移给 α -酮酸，形成相应的 α -氨基酸。

3. 氨基酸的相互转化

某些氨基酸在一定条件下可以相互转化，例如苯丙氨酸可以转变成酪氨酸；谷氨酸可以转变为脯氨酸；甘氨酸和丝氨酸可以互变等。



二、蛋白质的生物合成

20 多年来，对蛋白质生物合成的研究取得了巨大的进展。蛋白质是以氨基酸为基本单位组成的。不同蛋白质有着不同的氨基酸组成和氨基酸的不同排列顺序，氨基酸按一定的方式排列合成蛋白质的过程就是遗传信息的表达过程。遗传信息贮存在 DNA 分子内，DNA 中的遗传信息转录成 mRNA，再以 mRNA 为模板翻译合成蛋白质。遗传信息从 DNA $\xrightarrow{\text{转录}}$ mRNA $\xrightarrow{\text{翻译}}$ 蛋白质的流向，在遗传学上称为“中心法则”，(见第十章)。现把蛋白质合成过程中有关的内容阐述如下。

(一) 三联体遗传密码

生物有了一定结构的 DNA，就可以通过 RNA 聚合酶以 DNA 为模板，转录成 mRNA。使 DNA 贮存的遗传信息转录成 mRNA，而 mRNA 上的核苷酸排列顺序决定所合成多肽链中氨基酸的排列顺序。我们所讨论的遗传密码实际上是指 mRNA 中核苷酸的排列顺序与蛋白质氨基酸排列顺序的关系。mRNA 中的核苷酸只有四种，即 A、U、G、C，而氨基酸却有 20 种，显

然，如果每一种核苷酸代表一种氨基酸，四种核苷酸不能指示出 20 种氨基酸；以两个核苷酸为一组代表一种氨基酸亦只能有 4 即 16 种排列方式；如果以三个核苷酸为一组代表一种氨基酸，四种核苷酸可以有 4^3 即 64 种排列组合，这样就有可以满足 20 种氨基酸编码的需要。应用生物化学和遗传学的研究技术，已经充分证明 mRNA 中每三个相邻核苷酸顺序，是蛋白质合成中某一特定氨基酸的密码单位。所以称为三联体密码或密码子。1961 年到 1965 年尼伦伯格(Nirenberg)、霍拉纳(Khorana)等分别用人工合成的简单的多核苷酸序列作模板，进行体外蛋白质生物合成，发现了 20 种氨基酸的 60 多组密码子，编制出了遗传密码字典(表 11-3)。表中共有 64 组密码子，其中有三组不为任何氨基酸编码，是肽链合成的终止密码子。UAA、UAG、UGA 三个终止密码子中，最常用的是 UAA。有一组密码子 AUG 既是甲硫氨酸的密码子，又是肽链合成的起始密码子。

一般来说，三联体密码的前两个核苷酸具有较强的专一性，而第三个核苷酸则是可能变更的。例如 GCU、GCC、GCA 和 GCG 都是丙氨酸的密码，他们的前两个核苷酸都相同，均为 GC，而第三位核苷酸就不同了。

密码的翻译工作由 tRNA 担任，由各种 tRNA 的反密码子来识别 mRNA 上相应的遗传密码子。例如在原核生物，当“起始”密码子 AUG 出现时，由携带了第一个氨基酸的 tRNA——甲酰甲硫氨酰-tRNA 来识别，以其反密码子 CAU 与起始密码 AUG 配对。甲酰甲硫氨酰-tRNA 与 mRNA 结合后，按照 mRNA 上顺次出现的密码子，相应的氨酰 tRNA 以其反密码子与 mRNA 上的密码子互相配对，把 mRNA 上的密码子顺序翻译成肽链上的氨基酸顺序。由氨基酸合成多肽链的反应是在核糖体上按顺序进行的，直到终止密码 UAA、UAG 或 UGA 出现而停止。下面是遗传密码翻译的例子，

1993, 1994, 1995, 1996, 1997, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025, 2026, 2027, 2028, 2029, 2030, 2031, 2032, 2033, 2034, 2035, 2036, 2037, 2038, 2039, 2040, 2041, 2042, 2043, 2044, 2045, 2046, 2047, 2048, 2049, 2050, 2051, 2052, 2053, 2054, 2055, 2056, 2057, 2058, 2059, 2060, 2061, 2062, 2063, 2064, 2065, 2066, 2067, 2068, 2069, 2070, 2071, 2072, 2073, 2074, 2075, 2076, 2077, 2078, 2079, 2080, 2081, 2082, 2083, 2084, 2085, 2086, 2087, 2088, 2089, 2090, 2091, 2092, 2093, 2094, 2095, 2096, 2097, 2098, 2099, 2100, 2101, 2102, 2103, 2104, 2105, 2106, 2107, 2108, 2109, 2110, 2111, 2112, 2113, 2114, 2115, 2116, 2117, 2118, 2119, 2120, 2121, 2122, 2123, 2124, 2125, 2126, 2127, 2128, 2129, 2130, 2131, 2132, 2133, 2134, 2135, 2136, 2137, 2138, 2139, 2140, 2141, 2142, 2143, 2144, 2145, 2146, 2147, 2148, 2149, 2150, 2151, 2152, 2153, 2154, 2155, 2156, 2157, 2158, 2159, 2160, 2161, 2162, 2163, 2164, 2165, 2166, 2167, 2168, 2169, 2170, 2171, 2172, 2173, 2174, 2175, 2176, 2177, 2178, 2179, 2180, 2181, 2182, 2183, 2184, 2185, 2186, 2187, 2188, 2189, 2190, 2191, 2192, 2193, 2194, 2195, 2196, 2197, 2198, 2199, 2200, 2201, 2202, 2203, 2204, 2205, 2206, 2207, 2208, 2209, 2210, 2211, 2212, 2213, 2214, 2215, 2216, 2217, 2218, 2219, 2220, 2221, 2222, 2223, 2224, 2225, 2226, 2227, 2228, 2229, 2230, 2231, 2232, 2233, 2234, 2235, 2236, 2237, 2238, 2239, 2240, 2241, 2242, 2243, 2244, 2245, 2246, 2247, 2248, 2249, 2250, 2251, 2252, 2253, 2254, 2255, 2256, 2257, 2258, 2259, 2260, 2261, 2262, 2263, 2264, 2265, 2266, 2267, 2268, 2269, 2270, 2271, 2272, 2273, 2274, 2275, 2276, 2277, 2278, 2279, 2280, 2281, 2282, 2283, 2284, 2285, 2286, 2287, 2288, 2289, 2290, 2291, 2292, 2293, 2294, 2295, 2296, 2297, 2298, 2299, 2300, 2301, 2302, 2303, 2304, 2305, 2306, 2307, 2308, 2309, 2310, 2311, 2312, 2313, 2314, 2315, 2316, 2317, 2318, 2319, 2320, 2321, 2322, 2323, 2324, 2325, 2326, 2327, 2328, 2329, 2330, 2331, 2332, 2333, 2334, 2335, 2336, 2337, 2338, 2339, 2340, 2341, 2342, 2343, 2344, 2345, 2346, 2347, 2348, 2349, 2350, 2351, 2352, 2353, 2354, 2355, 2356, 2357, 2358, 2359, 2360, 2361, 2362, 2363, 2364, 2365, 2366, 2367, 2368, 2369, 2370, 2371, 2372, 2373, 2374, 2375, 2376, 2377, 2378, 2379, 2380, 2381, 2382, 2383, 2384, 2385, 2386, 2387, 2388, 2389, 2390, 2391, 2392, 2393, 2394, 2395, 2396, 2397, 2398, 2399, 2400, 2401, 2402, 2403, 2404, 2405, 2406, 2407, 2408, 2409, 2410, 2411, 2412, 2413, 2414, 2415, 2416, 2417, 2418, 2419, 2420, 2421, 2422, 2423, 2424, 2425, 2426, 2427, 2428, 2429, 2430, 2431, 2432, 2433, 2434, 2435, 2436, 2437, 2438, 2439, 2440, 2441, 2442, 2443, 2444, 2445, 2446, 2447, 2448, 2449, 2450, 2451, 2452, 2453, 2454, 2455, 2456, 2457, 2458, 2459, 2460, 2461, 2462, 2463, 2464, 2465, 2466, 2467, 2468, 2469, 2470, 2471, 2472, 2473, 2474, 2475, 2476, 2477, 2478, 2479, 2480, 2481, 2482, 2483, 2484, 2485, 2486, 2487, 2488, 2489, 2490, 2491, 2492, 2493, 2494, 2495, 2496, 2497, 2498, 2499, 2500, 2501, 2502, 2503, 2504, 2505, 2506, 2507, 2508, 2509, 2510, 2511, 2512, 2513, 2514, 2515, 2516, 2517, 2518, 2519, 2520, 2521, 2522, 2523, 2524, 2525, 2526, 2527, 2528, 2529, 2530, 2531, 2532, 2533, 2534, 2535, 2536, 2537, 2538, 2539, 2540, 2541, 2542, 2543, 2544, 2545, 2546, 2547, 2548, 2549, 2550, 2551, 2552, 2553, 2554, 2555, 2556, 2557, 2558, 2559, 2560, 2561, 2562, 2563, 2564, 2565, 2566, 2567, 2568, 2569, 2570, 2571, 2572, 2573, 2574, 2575, 2576, 2577, 2578, 2579, 2580, 2581, 2582, 2583, 2584, 2585, 2586, 2587, 2588, 2589, 2590, 2591, 2592, 2593, 2594, 2595, 2596, 2597, 2598, 2599, 2600, 2601, 2602, 2603, 2604, 2605, 2606, 2607, 2608, 2609, 2610, 2611, 2612, 2613, 2614, 2615, 2616, 2617, 2618, 2619, 2620, 2621, 2622, 2623, 2624, 2625, 2626, 2627, 2628, 2629, 2630, 2631, 2632, 2633, 2634, 2635, 2636, 2637, 2638, 2639, 2640, 2641, 2642, 2643, 2644, 2645, 2646, 2647, 2648, 2649, 2650, 2651, 2652, 2653, 2654, 2655, 2656, 2657, 2658, 2659, 2660, 2661, 2662, 2663, 2664, 2665, 2666, 2667, 2668, 2669, 2670, 2671, 2672, 2673, 2674, 26

封底密印 终止密印

[illegible]

大症大治，小症小治，宜因证下，非因证下也。大治，即不论证者。

TABLE 1

(二) 核糖体

核糖体是存在于细胞质内的微小颗粒,分布在粗面内质网上或游离存在,1950年,赞米克尼克(Zamecnik)将放射性氨基酸注射至大白鼠体内,经短时间后,取出肝脏制成匀浆,离心后分析细胞各组分的放射性强度,发现核糖体的放射性强度最高,证明了核糖体是进行蛋白质合成的部位。

1. 核糖体的组成和结构

核糖体是细胞质里的一种球状小颗粒。原核细胞的核糖体直径约 18 nm,颗粒重为 2.6×10^6 道尔顿,沉降系数为 70 S^①。在原核细胞中,核糖体或游离存在或与 mRNA 缔合,每个细胞约含 10^4 个核糖体。真核细胞的核糖体直径约为 20—22 nm,颗粒重为 3.6×10^6 道尔顿,沉降系数为 80 S。在真核细胞中,核糖体或游离存在或与粗面内质网结合。真核细胞的线粒体和叶绿体中也有核糖体存在。每个真核细胞含有 10^5 — 10^7 个核糖体。当多个核糖体与 mRNA 缔合时称为多核糖体。

核糖体由大小不同的两个亚基组成。原核细胞 70 S 核糖体的 30 S 小亚基含有一分子 16 S rRNA 和 21 种蛋白质;50 S 大亚基含有 5 S、23 S rRNA 各一分子和 34 种蛋白质。真核细胞 80 S 核糖体的 40 S 小亚基含有一分子 18 S rRNA 和约 30 种蛋白质;60 S 大亚基含有 5 S、28 S rRNA 各一分子(哺乳动物 60 S 大亚基另外含一分子 5.8 S rRNA)和约 50 种蛋白质。表 11-4 摘录了核糖体的组成及某些特性。

图 11-3 是根据电镜照片提出的一种大肠杆菌核糖体模型。小亚基包括一个头部,一个基部和一个平台,平台与头部间有一个裂口;大亚基有一个中心突出部,一边有一个脊,另一边有一个柄。

^① 沉降系数是大分子沉降速度的量度,等于每单位离心场里沉降分子下沉的速度。符号 S。1 S = 10^{-13} 秒。

表 11-4 核糖体的组成及某些特性

核 糖 体		原核细胞核糖体			真核细胞核糖体		
沉降系数		70 S			80 S		
直径(nm)		18			20—22		
颗粒重量(道尔顿)		约 2.6×10^6			约 3.6×10^6		
rRNA 含量(%)		60—65			50—60		
蛋白质含量(%)		35—40			40—50		
亚基沉降系数		30 S	50 S		40 S	60 S	
rRNA	沉降系数	16 S	5 S	23 S	18 S	5 S	28—29 S
	分子量(道尔顿)	5.5×10^5	0.4×10^5	11×10^5	7×10^5	0.4×10^5	$14—18 \times 10^5$
亚基中蛋白质种类		21	34		~30	~50	

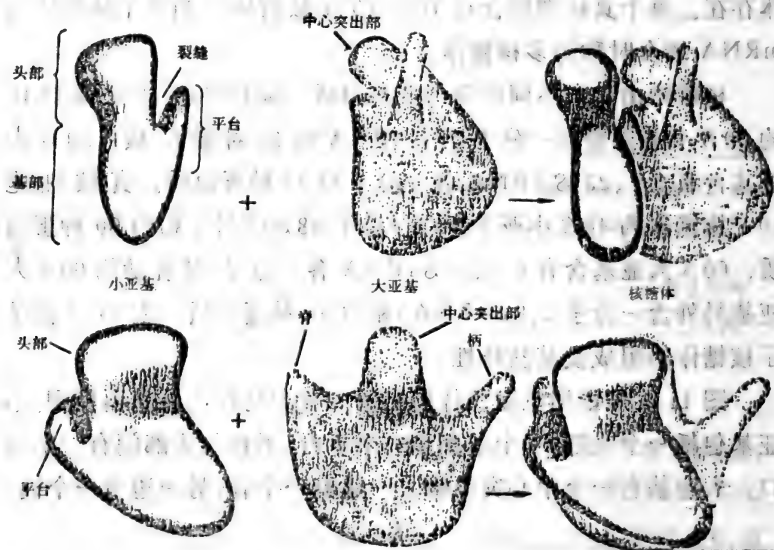


图 11-3 大肠杆菌核糖体模型

两个亚基结合面上有相当大的空隙，蛋白质生物合成的过程可能就是在这一空隙中进行的。

2. 核糖体的功能部位

核糖体可以看作是一个大分子的机构，它具有许多精密配合的部分，以识别和管理参与蛋白质合成的各个组分。它参与蛋白质生物合成的启动、延长和终止的全过程。图 11-4 是大肠杆菌核糖体主要功能部位的示意图。核糖体的大亚基上有两个结合 tRNA 的位点：氨酰基位点(A 位点)可与新掺入的氨酰-tRNA 相结合；肽酰基位点(P 位点)可与延伸中的多肽酰 tRNA 相结合。A 位点和 P 位点的位置可能是在 50S 亚基与 30S 亚基接合的表面上。结合 mRNA 的位点位于 30S 亚基与 50S 亚基之间的接触面上。此外，核糖体上还有许多结合起始因子、延伸因子、释放因子和各种酶的位点。

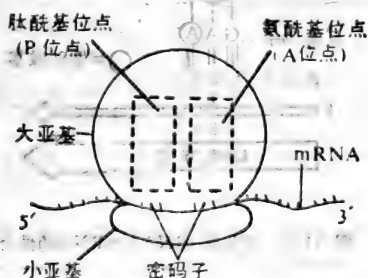


图 11-4 大肠杆菌核糖体示意图

(三) 转移RNA的功能

tRNA的种类很多，分子的大小也不相同，天然蛋白质的 20 种氨基酸各有自己特定的 tRNA，除色氨酸和甲硫氨酸各有一种特定的 tRNA 外，其余氨基酸均有 2—6 种 tRNA。在蛋白质合成中，tRNA 携带着专一的氨基酸，在核糖体上以其反密码子与 mRNA 相应密码子碱基配对，将遗传密码转译成相应的氨基酸排列顺序。

例如 tRNA^亮 的反密码子为 AAG，它的相应密码子是 CUU，在核糖体上 tRNA^亮 的反密码子与 mRNA 上的密码子 CUU 配对，(图11-5)。

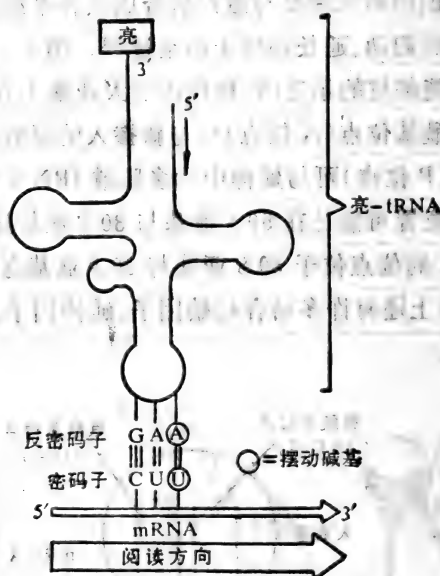


图 11-5 氨基酸 tRNA 与 mRNA 的结合

tRNA反密码子中的第一个碱基与 mRNA密码子中的第三个碱基之间的配对并不严格地遵循标准的碱基配对规律(称为摆动碱基配对)。可出现U与G、G与U以及I与U、C或A配对。见表11-5。

(四) 蛋白质生物合成的过程

蛋白质生物合成的过程很复杂,大约有 200 种细胞成分参加,表 11-6 列出大肠杆菌蛋白质生物合成时所需的重要成分。

蛋白质生物合成的过程可分为氨基酸的激活、核糖体上的多

表 11-5 反密码子第一个碱基与密码子第三个碱基之间的摆动碱基配对

tRNA 反密码子的第一个碱基 (5'-末端)	mRNA 密码子的第三个碱基 (3'-末端)
A	U
C	G
U	A 或 G
G	U 或 C
I (次黄嘌呤核苷酸)	U、C 或 A

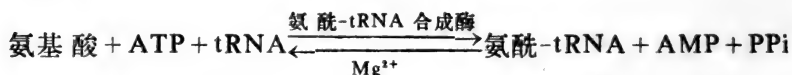
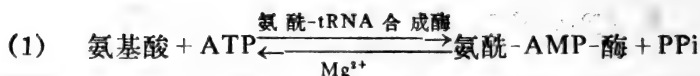
表 11-6 大肠杆菌蛋白质生物合成体系的重要组分

阶 段	重 要 成 分
氨基酸的激活	L-氨基酸、氨酰-tRNA 合成酶、tRNA、ATP、 Mg^{2+}
核糖体上的多肽合成	起 始 mRNA 的起始密码 AUG、fMet-tRNA _f 、30S 亚基、50S 亚基、起始因子 (IF ₁ 、IF ₂ 、IF ₃)、GTP、 Mg^{2+}
	肽链延长 70S 核糖体、mRNA 的密码、氨酰-tRNA、肽酰转移酶、移位酶 (EF-G)、延伸因子 (EF-Tu EF-Ts)、GTP、 Mg^{2+}
	终止和释放 70S 核糖体、mRNA 的终止密码、释放因子 (RF ₁ 、RF ₂ 、RF ₃)、肽基转移酶、GTP Mg^{2+}
蛋白质的加工修饰	去乙酰化酶、氨基肽酶、其他加工修饰的成分

肽合成、蛋白质的加工修饰三个阶段。

1. 氨基酸的激活

氨基酸在参加蛋白质的生物合成之前，先要活化和转运。合成蛋白质的直接前体是氨酰-tRNA，而不是游离的氨基酸。氨基酸通过氨酰-tRNA合成酶的催化，ATP与氨基酸反应成氨酰-AMP-酶复合物，然后与 tRNA 反应形成蛋白质合成的直接原料氨酰-tRNA。反应过程如下：



氨酰-tRNA合成酶有很高的专一性,这类酶有两个识别作用,既识别氨基酸又能识别对氨基酸专一的 tRNA。每一种氨基酸有它专一的酶。在这种酶作用下,活化氨基酸结合到 tRNA 3'-端上的腺苷酸残基上的游离 2' 或 3'-OH 上。tRNA 的氨酰化作用如图 11-6。

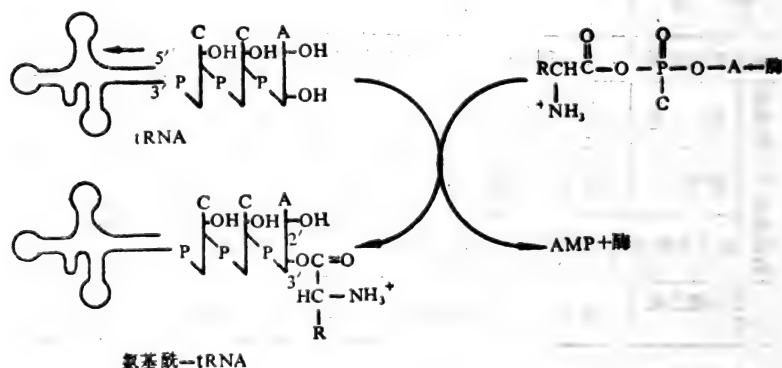


图 11-6 tRNA 的氨酰化作用

2. 核糖体上进行多肽合成(简称核糖体循环)

在核糖体上进行多肽链的合成过程(图 11-7) 可以人为地分成起始、肽链延长和终止三个阶段。

(1) 起始阶段

合成多肽时的第一个氨基酸残基是甲硫氨酸,大肠杆菌中转运甲硫氨酸的 tRNA 有两种,一种是运送肽链合成的起始物甲酰

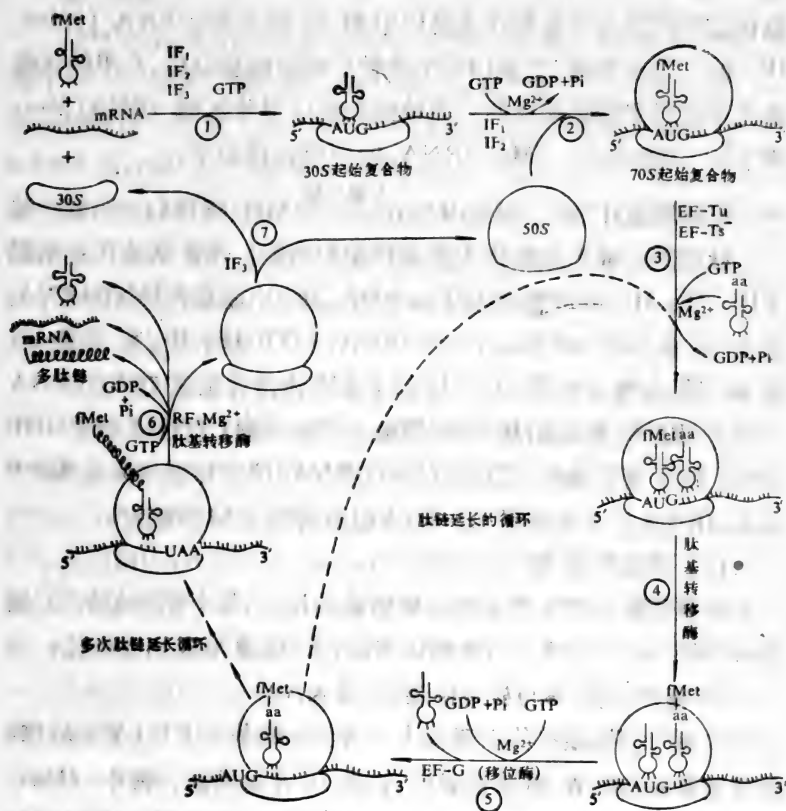


图 11-7 原核细胞蛋白质合成过程图解

第一阶段：多肽合成的起始① 生成 30 S 起始复合物 ② 生成 70 S 起始复合物

第二阶段：肽链的延长循环③ 新的氨酰 tRNA 进入 A 位 ④ 肽键形成 ⑤ 移位及 P 位上原有的去酰化 tRNA 脱落

第三阶段：肽链合成的终止和释放⑥ RF 识别终止密码，新生的多肽链和去酰化 tRNA 释放出核糖体，70 S 核糖体从 mRNA 脱落 ⑦ 70 S 核糖体解离为 30 S 亚基和 50 S 亚基

甲硫氨酸的 $tRNA_i$, 另一种是运送肽链内的甲硫氨酸的 $tRNA_m$ 。原核细胞的蛋白质生物合成是以甲酰甲硫氨酰- $tRNA$ ($fMet-tRNA_i$) 为起始物, 它是 $tRNA_i$ 携带甲硫氨酰基以后, 在甲酰化酶催化下进行甲酰化形成的。真核细胞则以甲硫氨酰- $tRNA$ ($Met-tRNA$) 为起始物。 $fMet-tRNA_i$ 的形成过程如下:



肽链的合成在核糖体上是怎样起始的呢? 现在认为在起始因子 IF_1 、 IF_2 、 IF_3 、GTP 的参加下, mRNA、30S 小亚基和 $fMet-tRNA_i$ 首先生成 30S-mRNA- $fMet-tRNA_i$ -GTP- IF_1 - IF_2 复合物(简称 30S 复合物); 然后 50S 与 30S 复合体结合生成 70S-mRNA- $fMet-tRNA_i$ 的起始复合物(简称 70S 复合物), GTP 水解成 GDP 和 P_i 。70S 复合物生成以后, $fMet-tRNA_i$ 位于核糖体大亚基的 P 位上, $tRNA_i$ 以反密码子与 mRNA 起始密码子 AUG 配对。

• (2) 肽链的延长

肽链的延长是由许多次循环组成的过程, 每个循环包括① 氨酰- $tRNA$ ($aa-tRNA$) 与核糖体连接, ② 肽键形成和③移位。

① 氨酰- $tRNA$ 与核糖体连接, 进入 A 位

前面介绍过核糖体大亚基上有接受肽酰基的 P 位(又称给位)和接受氨酰基的 A 位(又称受位)。在 70S 起始复合物中, $fMet-tRNA_i$ 与 P 位结合, A 位空着。与 mRNA 第二个密码子相对应的氨酰- $tRNA$ 进入 A 位时, 需要延伸因子 $EF-Tu$ 、 $EF-Ts$ 和 GTP 的作用。

② 肽键形成

在肽基转移酶的催化下, P 位的 $fMet-tRNA_i$ 的 $fMet$ 转移到 A 位上和 $aa-tRNA$ 中的氨基酸残基的 α -氨基通过酰胺键连接, 形成二肽酰- $tRNA$ ($fMet-aa-tRNA$)。在 P 位上, 留下乙酰化的 $tRNA_i$ 。

③ 移位

fMet转移到A位的aa-tRNA上形成二肽酰-tRNA后,由延伸因子EF-G(即移位酶)催化,GTP供能,使P位上的去酰化tRNA,离开核糖体,A位上的fMet-aa-tRNA位移至P位,核糖体与mRNA相对移动一个密码子距离。这样A位又空着,类似于70S起始复合物的情况。接着连续进行肽链延长的第二个循环,第三个循环……,根据顺次出现在A位上的密码子延长肽链,直至mRNA分子上的终止密码子出现在核糖体的A位为止。

(3) 终止和释放

当肽链的延长过程进行到mRNA分子上的终止密码UAA或UAG或UGA出现在核糖体A位时,由于tRNA不含有这三个终止密码的反密码子,所以不能识别终止密码。释放因子(终止因子RF在GTP存在时却能识别终止密码。RF有RF₁、RF₂和RF₃三种。RF₁能识别UAA和UAG,RF₂能识别UAA和UGA,RF₃能影响肽链的释放速度。RF与A位结合后,活化肽基转移酶的水解酶活性,水解P位上tRNA与肽链之间的酯键,把新生成的肽链和最后一个去酰化tRNA释放出核糖体,RF还具有依赖核糖体的GTP酶活性,催化GTP水解使RF与核糖体解离。与此同时,70S核糖体也从mRNA上脱落,并在IF₃的参与下解离为30S亚基和50S亚基,再投入新的核糖体循环。

以上示意图中所表示的是单个核糖体上蛋白质合成的情况。在生物体内往往是两个或更多的核糖体同时附着在一个mRNA分子上组成多核糖体。多核糖体的外观呈念珠状,两个核糖体之间一般相隔约40个核苷酸,为裸露的mRNA,它对核糖核酸酶敏感。每个核糖体按上述步骤依次在mRNA模板的指导下,独立完成一条肽链的合成,因此多核糖体可以在一条mRNA上同时合成几条肽链(图11-8),大大提高了翻译的效率。

真核细胞的蛋白质合成过程大致与原核细胞相同,但也有差

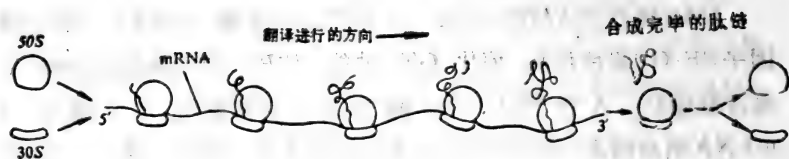


图 11-8 多核糖体示意图：表示五个核糖体同时在翻译一条mRNA上的信息

异,例如高等动物起始的氨酰-tRNA是甲硫氨酰-tRNA,而不是甲酰甲硫氨酰-tRNA;肽链延伸因子是EF-T₁和EF-T₂,释放因子只有一个。

3. 肽链合成后的“加工修饰”

在核糖体上由mRNA翻译出来的多肽链,多数还不是有功能的蛋白质,一般要经过各种方式的“加工修饰”才能转变成为有生物学功能的蛋白质。较重要的加工修饰如下:

(1) N-端甲硫氨酸的切除 先由脱甲酰基酶催化水解除去N-端的甲酰基,然后在氨肽酶的作用下切去甲硫氨酸或几个N-端氨基酸。在真核细胞中,N-端的甲硫氨酸常常在肽链未完全合成时就已经水解下来。

(2) 二硫键的形成 mRNA没有胱氨酸的密码子,多肽合成后是在酶的催化下,通过两个半胱氨酸的巯基-SH氧化形成二硫键。

(3) 氨基酸的修饰,有些氨基酸要进一步修饰。如羟脯氨酸和羟赖氨酸是胶原中的脯氨酸和赖氨酸的羟基化产物。

(4) 切除部分肽链 有些肽要经过特殊的酶水解切去部分肽段后才具有生物学功能,例如由翻译合成产生的胰岛素原是一条肽链,要经胰蛋白酶及羧肽酶B切去一段肽链后才形成两条肽链的具有活性的胰岛素。

(5) 与辅助的物质结合 有些蛋白质合成后,要有其他的物质与其结合,这些非蛋白质物质有糖、脂、核酸和血红素等。

(6) 亚单位的聚合 凡具有四级结构的蛋白质,在成熟过程中,通过各种非共价键,使亚单位之间相互聚合成具有活性的蛋白质分子。

思 考 题

1. 蛋白质在人体内的消化从哪里开始? 怎样分解成氨基酸? 氨基酸怎样供应各器官和组织?

2. 为什么认为在氧化脱氨过程中,以L-谷氨酸脱氢酶催化脱氨的作用重要? L-谷氨酸脱氢酶怎样使谷氨酸脱氨?

3. 转氨酶的辅酶是什么? 它怎样把一种氨基酸中的氨基转移给酮酸而生成新的氨基酸?

4. 为什么说联合脱氨作用是转氨基作用和氧化脱氨基作用联合进行脱氨的方式,阐明它们之间的相互关系。

5. 氨基酸主要的分解产物是什么? 尿素在体内是怎样生成的?

6. 氨基酸脱氨以后生成的 α -酮酸有哪些去路?

7. 简述氨基酸合成的三种方式。

8. 什么叫“中心法则”?

9. 什么叫“三联体遗传密码”? mRNA上的遗传密码为: AUG GAC GAA UAG UGA时,多肽的氨基酸排列是怎样的?

10. 核糖体有哪些功能部位?

11. tRNA有什么重要功能?

12. 简述蛋白质生物合成的过程。

第十二章 物质代谢的相互联系 和调节控制

前面几章分别研究了糖、脂、核酸和蛋白质的代谢。这些代谢过程不是孤立的,它们之间是相互联系和相互制约的,如果这些代谢之间的协调遭到破坏,代谢便发生紊乱,生物体便会出现各种病态。生物机体错综复杂的代谢过程,能够很好地协调,是由于机体内有一套调节机制来适应外界的变化。本章介绍生物体内物质代谢之间的相互联系和调节控制。

第一节 物质代谢的相互联系

生物体内,各类物质的代谢相互联系、相互制约,在一定条件下,各类物质又可相互转化。现将四类主要物质:糖、脂、蛋白质和核酸之间的联系分成以下四方面讨论。

一、糖代谢和脂肪代谢的相互联系

糖和脂肪的相互转变是较明显的,特别是糖转变成脂肪的过程,在植物、动物和微生物中都普遍存在。油料作物种子中脂肪的积累;以含糖量较多的饲料喂养家畜家禽,可以获得育肥的效果;某些酵母,在含糖的培养基中培养,其合成的脂肪可达干重的40%。这些都是糖变成脂肪的例子。

在糖酵解的中间产物中有磷酸二羟丙酮和丙酮酸。磷酸二羟丙酮可转变成 α -磷酸甘油;丙酮酸经氧化脱羧变成乙酰辅酶A,然后合成脂肪酸。脂肪就是由 α -磷酸甘油和脂肪酸缩合而成的。通过用 ^{14}C 葡萄糖喂养动物,从这些动物组织中分离出的软脂酸中

发现 ^{14}C , 证明糖能变成脂。糖转变成乙酰辅酶 A 后, 还可转变成胆固醇及其衍生物。

脂肪经水解成 α -磷酸甘油和脂肪酸, α -磷酸甘油再转变成磷酸二羟丙酮, 可以沿糖酵解的逆反应生成糖。在植物或微生物体内, 脂肪酸转变成乙酰辅酶 A 后, 经乙醛酸循环和三羧酸循环产生草酰乙酸, 转变为磷酸烯醇式丙酮酸后, 再经糖异生作用合成糖。一般说, 脂肪转变成糖的过程是在一定条件下产生的, 例如油料种子萌发时, 贮存脂肪转变为糖; 刺猬在冬眠时, 脂肪可转变成少量糖。用 $\text{CH}_3^{14}\text{COOH}$ 饲喂动物后, 有 ^{14}C 参入肝糖原分子中, 虽然量很少, 但证明脂肪可能转变成糖。

二、糖代谢和蛋白质代谢的相互联系

蛋白质是由氨基酸合成的。某些氨基酸相对应的 α -酮酸可来自糖的中间代谢产物。例如糖分解产生丙酮酸、草酰乙酸和 α -酮戊二酸, 这三种酸可以分别转变成丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸。谷氨酸可进一步转变成其他一些氨基酸如脯氨酸、羟脯氨酸、组氨酸和精氨酸等。动物体内能够合成的氨基酸称为非必需氨基酸; 动物体内不能合成, 必需由食物供给的氨基酸称为必需氨基酸。

已知组成蛋白质的 20 种氨基酸, 除亮氨酸和赖氨酸外, 其余的都可转变成糖, 蛋白质水解成氨基酸后, 氨基酸转变成糖的途径是通过脱氨或转氨基作用变成相应的 α -酮酸。例如丙氨酸变成丙酮酸, 天冬氨酸转变成草酰乙酸, 谷氨酸转变成 α -酮戊二酸。草酰乙酸和 α -酮戊二酸都可以转变成磷酸烯醇式丙酮酸, 然后沿糖的异生作用合成糖。在动物饥饿的情况下, 氨基酸是体内糖的主要来源。

三、蛋白质代谢和脂肪代谢的相互联系

组成蛋白质的所有氨基酸均可在动物体内转变成脂肪。生酮氨基酸在代谢过程中生成乙酰辅酶 A, 然后再生成脂肪酸; 生糖氨基酸生成丙酮酸, 丙酮酸不但可以变成甘油, 也可以氧化脱羧变成

乙酰辅酶A后生成脂肪酸,进一步合成脂肪。

脂肪水解成甘油和脂肪酸以后,变成丙酮酸和其他一些 α -酮酸,所以它和糖一样,可以转变成各种非必需氨基酸。脂肪酸经 β -氧化生成乙酰辅酶A,乙酰辅酶A通过三羧酸循环与草酰乙酸产生 α -酮戊二酸, α -酮戊二酸转变成谷氨酸后再转变成其他氨基酸。由于产生 α -酮戊二酸的过程需要草酰乙酸,而草酰乙酸是由蛋白质与糖所产生的,所以脂肪转变成氨基酸的数量是有限的。植物种子萌发时,脂肪转变成氨基酸较多。

四、核酸代谢与糖、脂肪和蛋白质代谢的相互联系

核酸是细胞中重要的遗传物质,它通过控制蛋白质合成,影响细胞的组成成分和代谢类型。核酸不是重要的供能物质,但是,许多核苷酸在各类有机物质的代谢中起着重要的作用。

糖代谢中磷酸戊糖途径产生的五碳糖(核糖),是核苷酸生物合成的重要原料。核苷酸对糖代谢有极密切的关系,糖异生作用需要ATP,双糖和多糖的合成需要UTP。

核苷酸的碱基合成时需要的 CO_2 ,可以由糖和脂肪分解的产物得来。核苷酸与脂肪代谢有密切的关系,脂肪酸和脂肪的合成需要ATP,磷脂酰胆碱的合成需要CTP。

甘氨酸、甲酸盐、谷氨酰胺、天冬氨酸和氨等物质,是合成嘌呤碱或嘧啶碱的原料,所以蛋白质的代谢与嘌呤或嘧啶的合成有密切的关系。蛋白质是以DNA为基因,mRNA为模板,在tRNA和rRNA的共同参加下以各种氨基酸为原料合成的,蛋白质的生物合成又必须有GTP供应能量,因此核酸又对蛋白质的代谢有重要的作用。

生物体中糖、脂肪、蛋白质的相互关系示意图见图12-1。

第二节 代谢的调节

生命活动要靠代谢的正常运转来维持。生物体内的物质代谢

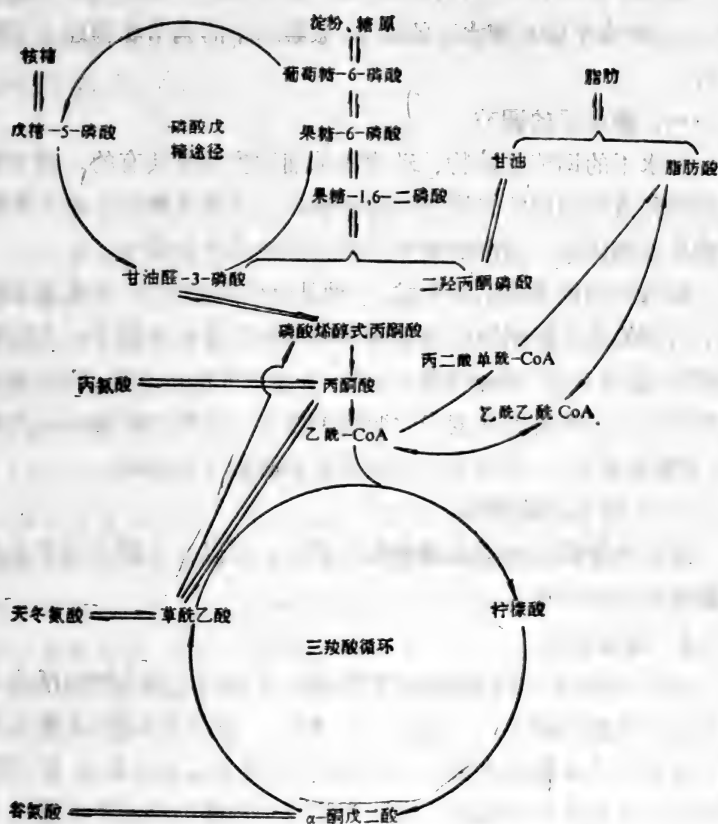


图 12-1 糖、脂类、蛋白质代谢的相互联系

非常错综复杂，一个细菌细胞内的代谢反应就有 1,000 种以上，高等生物的代谢反应更难以估量。虽然机体内的代谢反应瞬息万变，千差万别，但生物机体内的代谢却是互相制约，非常协调的，一切代谢都有条不紊地进行着。这就一定有比电子计算机更准确而迅速地调节生物体内代谢的调节机构。如果调节失灵，就会在不同程度上引起生理上的紊乱，严重时导致生物的死亡。

就整个生物界来说，代谢的调节是在三种不同的水平上进行的，这三种水平就是酶水平的调节、激素水平的调节和神经水平的调节。

一、酶水平的调节

酶水平的调节是植物、动物和单细胞生物所共有的。因为原核细胞和真核细胞的代谢都有酶参加，而且酶是维持生命正常活动最基本的因素。所以酶水平的调节是最基本的调节。

酶水平的调节有两种方式，一种是改变酶的活力，它是通过酶分子结构的改变影响酶的活性而实现对酶促反应的调节，是快速的调节，反应在分、秒钟内发生；另一种是改变酶的含量，它是通过改变酶合成或降解的速度来改变酶的浓度而实现对酶促反应的调节，是缓慢调节，一般要几小时甚至更长时间才能完成。

(一) 酶活力的调节

通过改变酶的结构来调节酶的活力；可以分成别构调节和化学修饰调节两种方式。

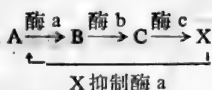
1. 别构调节

酶活力的调节是以酶分子的结构为基础的，因为酶的活力与其分子结构密切相关。细胞内有一类酶，称为别构酶（又称变构酶），这类酶大多数是寡聚酶，含有两个或两个以上的亚基，除活性部位以外，还有别构部位，当代谢物与别构部位以非共价键结合时，能使酶活性部位构象改变，从而引起酶活力的提高或降低。酶构象的这种改变对酶活力的影响称为别构效应。凡能使酶分子产生别构效应的物质，称为别构效应物。使酶活力受到抑制的物质，称为变构抑制剂；反之，使酶活力增加的物质，称为变构激活剂。机体别构调节的方式很多，现介绍较普遍的三种。

(1) 反馈抑制

反馈抑制主要是酶促反应终产物对反应途径中第一个酶活力的抑制。当代谢最终产物已大量存在而不需要再合成时，它便和

合成途径中的第一个酶相结合,使这一酶暂时受到抑制,从而停止继续合成的反应。反馈抑制是生物自我控制的一种普遍现象。这个过程可以表示如下。



这代谢过程的最终产物是 X,它可以抑制酶 a,酶 a 是别构酶。当酶 a 受到抑制后,整个连续的代谢反应即有效地得到调节。例如大肠杆菌中苏氨酸转变为异亮氨酸的过程中,终产物异亮氨酸可以抑制苏氨酸脱氨酶,苏氨酸脱氨酶是别构酶,这种调节属别构调节,见图 12-2。

(2) 代谢产物对代谢途径的影响

除了反馈抑制外,一条代谢途径的某一产物过剩,也可以使该产物前面的反应过程中的某一个酶受到抑制或激活而改变代谢。例如在有氧的条件下,丙酮酸产生的乙酰-CoA 可以合成柠檬酸参加三羧酸循环,但当柠檬酸过剩后,一方面可以抑制磷酸果糖激酶,这样抑制葡萄糖分解,有利于丙酮酸的糖原异生作用;另一方面,柠檬酸过剩又可以激活乙酰-CoA 羧化酶,有利于脂肪酸的合成。反应调节过程如图 12-3。

(3) 别构调节

除上述两种别构调节以外,有一些别构酶可以受核苷酸类化合物如 ATP、ADP、AMP 的增减而抑制或激活。例如,当体内 ATP 减少而 ADP 或 AMP 增加时,通过对酶的别构调节,降低糖原异生或脂肪酸合成等耗能的合成代谢速度,加速糖酵解和生物氧化等产能的分解代谢速度;相反,当 ATP 增多时,就会促进糖原异生和脂肪酸合成等合成代谢速度。

2. 酶蛋白的酶促化学修饰

酶蛋白在其他酶的催化下,使酶分子中以共价键结合或解离



图 12-2 大肠杆菌中的异亮氨酸合成体系

A 结合苏氨酸后破坏了别构部位,使它不能结合异亮氨酸 B 异亮氨酸与别构部位结合引起酶的构象改变,修饰了活力部位,使酶的作用受到抑制

化学修饰和别构调节不同,它能引起酶分子共价键的变化,这种酶一般都存在无活性和有活性的两种相对形式,这两种形式的正、逆向反应由不同的酶所催化,因为它是酶促反应,所以可将化学信号大幅度地放大,只要催化量的调节因素存在,就可通过这种酶促反应,使大量的另一种酶发生化学修饰,因此其调节效率比别构调节高。由于酶促反应可连锁进行,一个酶被激活后,连续地发生其他酶被激活,导致原始信号的连续多次放大,这样的连锁代谢反应系统称为级联放大或级联系统。例如肾上腺素和胰高血糖素对磷酸化酶b的激活就属于这种类型。只要有极微量的肾上腺素或胰高血糖素到达靶细胞,就会激活腺苷酸环化酶,使细胞内cAMP含量升高,然后通过级联放大,最终使无活力的磷酸化酶b转变为有活力的磷酸化酶a,从而促进糖原分解生成更多的葡萄糖-1-磷酸。磷酸化酶激活的级联反应系统见图12-4。酶的化学修饰是由专一性酶催化的,表12-1列举一些酶的酶促化学修饰反应。

表 12-1 酶促化学修饰对酶活力的调节

酶 类	反 应 类 型	修饰前后活力的变化
磷酸化酶	磷酸化/脱磷酸化	增加/降低
磷酸化酶 b 激酶	磷酸化/脱磷酸化	增加/降低
糖原合成酶	磷酸化/脱磷酸化	降低/增加
丙酮酸脱氢酶	磷酸化/脱磷酸化	增加/降低
激素敏感的脂肪酶	磷酸化/脱磷酸化	增加/降低
谷氨酰胺合成酶	腺苷酰化/脱腺苷酰化	降低/增加

(二) 控制酶浓度的调节

酶的浓度取决于酶的合成和降解速度,细胞内酶的浓度即酶含量的增减可以调节生物体有机物质的代谢。

1. 酶合成的诱导和阻遏

能促进细胞内酶的生成的物质称诱导物,这种作用称为酶的

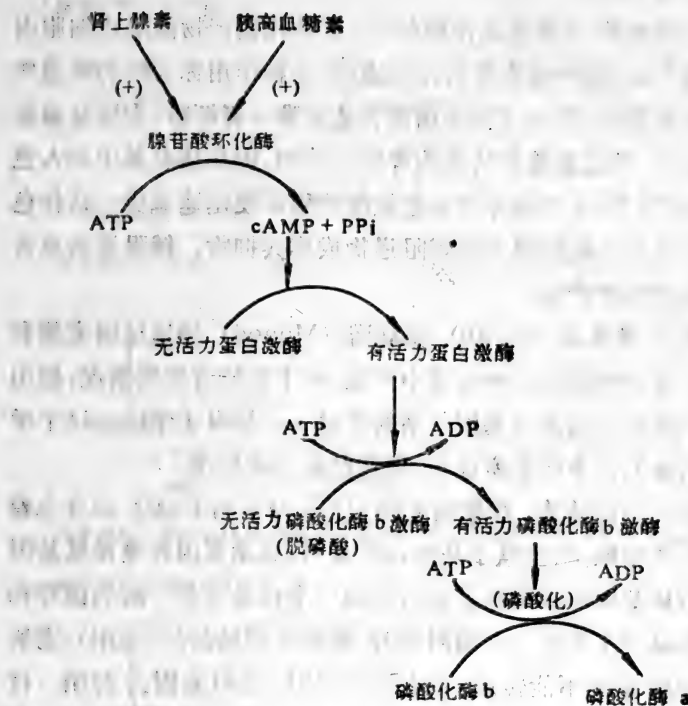


图 12-4 磷酸化酶激活的级联反应

诱导生成作用。例如大肠杆菌能利用许多种糖作培养基的碳源,在培养基中,如果利用乳糖作为唯一的碳源时,需要一个关键性的酶,就是 β -半乳糖苷酶,这种酶可以将乳糖水解为半乳糖和葡萄糖。当用葡萄糖或甘油作为碳源培养大肠杆菌时,大肠杆菌每个细胞中 β -半乳糖苷酶还不到五个分子,如果用乳糖作为唯一碳源时,起初大肠杆菌不能利用,但1—2分钟后, β -半乳糖苷酶迅速增加上千倍,大肠杆菌便能很好地利用乳糖了。因此,乳糖是诱导这种酶生成的诱导物, β -半乳糖苷酶是个诱导酶。这种调节方式是通过诱导物控制提高酶合成的量而进行调节的。诱导物通常是

该酶促反应的底物。

与上述酶的诱导合成作用相反,某些代谢产物能阻止细胞内某种酶的生成,这些物质称为辅阻遏物,这种作用称为酶的阻遏作用。例如用 NH_4^+ 作为大肠杆菌培养基的唯一氮源时,大肠杆菌能合成包括 20 种氨基酸和其他的含氮化合物,但在培养基中加入色氨酸,则利用 NH_4^+ 和碳源合成色氨酸的酶系便迅速减少。这样色氨酸就是合成色氨酸酶系的辅阻遏物或称共抑物。辅阻遏物通常是代谢途径的终产物。

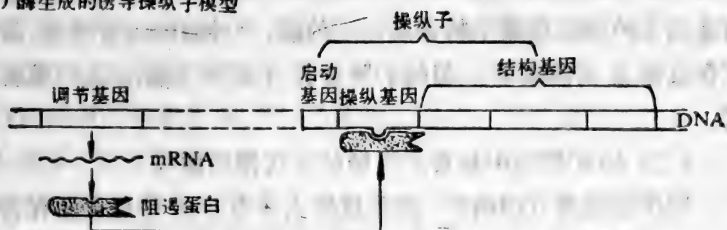
1961 年雅各布 (Jacob) 和莫诺 (Monod) 等通过研究能利用乳糖为唯一碳源的大肠杆菌中产生 β -半乳糖苷酶的情况,提出一个酶的诱导和阻遏与基因关系的学说——操纵子学说。这个学说已被后来的许多实验所证实,现在已被普遍接受。

操纵子学说认为,在原核生物 DNA 分子的不同区域分布着调节基因和操纵子,操纵子是由操纵基因、启动基因和受操纵基因控制的结构基因或基因组共同组成的一个转录单位。酶的诱导和阻遏在操纵子上发生。在酶阻遏时,操纵基因被封闭(关闭),它所控制的结构基因不能转录;而在酶诱导时,操纵基因去封闭(打开),它所控制的结构基因能通过转录和翻译而合成某种或某些蛋白质。操纵基因的封闭是通过操纵基因与一种阻遏蛋白或阻遏蛋白-辅阻遏物的复合物结合而发生的。诱导物与阻遏蛋白结合,使阻遏蛋白处于失活的构象,不能与操纵基因结合,于是操纵基因便去封闭(打开)。而辅阻遏物与阻遏蛋白结合使阻遏蛋白处于活化构象,紧密地与操纵基因结合,使之被封闭。阻遏蛋白的合成受调节基因控制,调节基因不需邻近操纵子。大肠杆菌主要依靠这两种不同的方式调节酶的合成(图 12-5)。

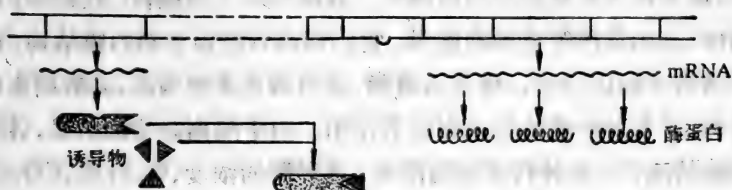
2. 酶的降解

改变酶蛋白降解的速度,也能调节细胞内酶的浓度,进而调节代谢。例如,饥饿时乙酰辅酶 A 羧化酶活力下降的原因之一便是

(1) 酶生成的诱导操纵子模型

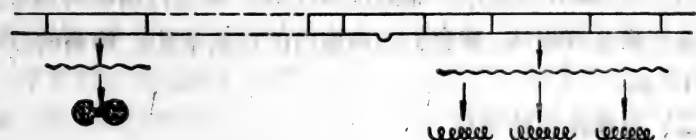


调节基因产生阻遏蛋白,阻遏蛋白封闭操纵基因,结构基因不能表达。

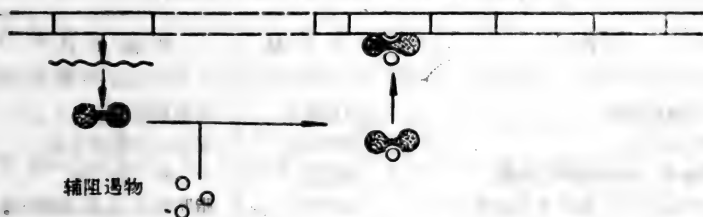


诱导物与阻遏蛋白结合,使阻遏蛋白失活,操纵基因去封闭,结构基因表达。

(2) 酶生成的阻遏操纵子模型



阻遏蛋白不能与操纵基因结合,操纵基因打开,结构基因表达。



辅阻遏物与阻遏蛋白结合,使阻遏蛋白活化,操纵基因被封闭,结构基因不能表达。

图 12-5 酶生成的诱导和阻遏操纵子模型

酶蛋白降解速度加快,使得这种酶的浓度降低。乙酰辅酶 A 羧化酶是调节控制脂肪酸生物合成速度的酶,这种酶的浓度降低,脂肪酸合成速度便会减慢。但酶的降解并不是调节酶浓度的重要方式。

(三) 酶在细胞中分布的区域化对代谢的调节

原核细胞没有细胞器,细胞质膜上分布着各种与代谢有关的酶,例如参加呼吸链、氧化磷酸化、磷脂及脂肪酸生物合成的各种酶,都存在于原核细胞的质膜上。真核细胞有细胞核、线粒体、核糖体、高尔基体等各种细胞器,它们都具有极为复杂的膜结构,以膜结构分隔成分室。膜是由磷脂、蛋白质及多糖构成,具有固定的结构,对各种物质的出入有调节作用。由于隔离分室的结果,各种辅酶的比例、各种代谢物的浓度、各种酶的浓度、 O_2 分压、 CO_2 分压等在各分室中的差异,使细胞中不同部位和不同细胞器行使各种不同的代谢功能。各种酶促反应是在复杂的膜结构中或分室内进行的,通过酶在细胞中分布的区域化对代谢进行精细的调节。如果这些膜系统损坏,就会引起细胞内的代谢紊乱。酶系的分布见表 12-2。

二、激素水平的调节

表 12-2 真核细胞内酶的分布 (举例)

酶	所在区域	代谢作用
ATP酶、转磷酸酶	细胞质膜	磷酸基转移
腺苷酸环化酶	细胞质膜	催化形成环腺苷酸
糖分解酶类、磷酸戊糖循环酶类	细胞质	糖酵解、糖代谢
脂肪酸合成酶类、氨基酸合成酶类	细胞质	脂肪酸合成、氨基酸合成
mRNA聚合酶、tRNA聚合酶、rRNA聚合酶	细胞核	DNA、RNA、NAD合成
三羧酸循环酶类、脂肪酸氧化酶类	线粒体	电子传递、氧化磷酸化
蛋白质合成酶类	内质网、核糖体	蛋白质合成

单细胞和低等生物,代谢的调节主要靠酶。多细胞的生物(植物、无脊椎与脊椎动物)可以由特殊细胞合成激素并经体液输送到有关的部位靶细胞,对代谢进行调节。激素是指由特殊的活细胞所分泌的对某些靶细胞有特殊激动作用的一群微量有机物质;激素是联系、协调和节制代谢的物质。激素调节代谢的作用是通过酶活性的控制和对酶及其他生化物质合成的诱导作用来完成的。要达到控制代谢的目的,生物体就要经常保持一定的激素水平,机体内各种激素的含量不能多,也不能少,过多过少都会使代谢发生紊乱。因此,利用激素调节代谢,首先应控制激素的生物合成,然后通过激素对酶活性的影响和对酶合成的诱导作用来调节代谢。生物界的激素可分成哺乳动物激素、无脊椎动物激素和高等植物激素,有关这些激素的作用和机制,在动物生理和植物生理中有详细的介绍,本章便不详细叙述了。

三、神经水平的调节

有完善的神经系统的人和高等动物,除酶和激素调节外,中枢神经系统对生物体的代谢有直接和间接的调节作用。

中枢神经系统的直接调节是大脑接受某种刺激后直接对有关组织、器官或细胞发出信息,使它们兴奋或抑制以调节代谢。例如“假饲”,实际上胃中没有进入食物,但能引起组织中糖代谢的加速。又如人在精神紧张或遭意外刺激时,肝糖源即迅速分解使血糖含量增高,这也是由大脑直接控制的代谢反应。由条件反射来影响代谢的反应都是受大脑直接控制的。

中枢神经系统对代谢的间接调控主要是通过对内分泌腺活动的管制而实现的,也就是通过对激素的合成和分泌的调控而发挥其调节作用的。

生物能维持正常的生命活动,是物质代谢有条不紊的结果。在代谢调节中,酶的调节是基本的,为动物、植物和单细胞生物所共有。在没有脊髓神经的动物和植物中,激素和酶是维持正常代

谢的基本物质。对于人和脊椎动物,中枢神经系统功能的正常活动,是维持代谢正常的关键。

思考题

1. 糖在体内怎样变成脂?
2. 蛋白质在体内怎样变成糖?
3. 蛋白质在体内怎样变成脂?
4. 糖、脂和蛋白质怎样参加核酸的代谢?
5. 为什么认为酶水平的调节是最基本的代谢调节?
6. 酶活力的调节和酶浓度的调节有什么不同?
7. 酶的别构调节和酶促化学修饰有什么不同?
8. 什么称为反馈作用?
9. 用操纵子学说阐述酶合成的诱导和阻遏。
10. 酶在细胞中的分布与代谢调节的关系是怎样的?

附 录

一、常用生化名词缩写或简称表

A	absorbance 吸收率
A; Ado	adenosine 腺(嘌呤核)苷
AcG	accelerator globulin 促凝血球蛋白
ACP	acyl carrier protein 酰基载体蛋白
ACTH	adrenocorticotropic hormone 促肾上腺皮质激素
Ade	adenine 腺嘌呤
ADP	adenosine diphosphate 腺苷二磷酸
ADPG	adenosine diphosphate glucose 腺苷二磷酸葡萄糖
AFP; α FP	α -fetoprotein 甲胎蛋白
Ala; A	alanine 丙氨酸
AMP	adenosine monophosphate 腺苷一磷酸, 腺苷酸
AMV	avian myeloblastosis virus 鸟类成髓细胞性白血病病毒
6 APA	6-aminopenicillanic acid 6-氨基青霉烷酸
APF	animal protein factor 动物蛋白因子
Arg; R	arginine 精氨酸
A site	aminoacyl site 氨酰基部位
Asn; N	asparagine 天冬酰胺
Asp; D	aspartic acid 天冬氨酸
ATP	adenosine triphosphate 腺苷三磷酸
ATPase	adenosine triphosphatase 腺苷三磷酸酶
BAL	dimercaprol; dimercaptopropanol 二巯基丙醇
BMR	basal metabolic rate 基础代谢率
BSP	brom(o) sulf (ophth) alein 四溴酚酞磺酸钠

C; Cyt	cytidine 胞(嘧啶核)苷
cAMP	[1] cyclic adenosine monophosphate 环腺苷酸 [2] adenosine-3', 5'-monophosphate 环腺苷酸; 腺苷-3', 5'-磷酸 [3] 3', 5'-cyclic adenylic acid 3',-5'-环腺苷酸
CAP	[1] cyclic AMP receptor protein cAMP 受体蛋白 [2] catabolite gene activator protein 分解物基因活化蛋白 [3] cell adhesion protein 细胞粘连蛋白
Cbz; Z	carbobenzoy- 苄氧羰基
CCC	chlorocholine chloride 氯化氯胆碱; 矮壮素
ccc-DNA	covalent closed circular-DNA 共价闭环 DNA
CD	circular dichroism 圆二色性
cDNA	complementary DNA 互补(于 RNA 的)DNA; 反转录 DNA
CDP	cytidine diphosphate 胞苷二磷酸
CEA	carcino-embryonic antigen 癌胚抗原
CF	citrovorum factor 嗜橙菌因子; 亚叶酸; N ⁵ -甲酰-5,6,7,8-四氢叶酸
CMC	carboxymethyl cellulose 羧甲基纤维素
CMP	cytidine monophosphate; cytidylic acid 胞苷一磷酸, 胞苷酸
CoI	coenzyme I 辅酶 I
CoII	coenzyme II 辅酶 II
CoA	coenzyme A 辅酶 A
ConA	concanavalin 伴刀豆球蛋白
cpm	counts per minute 每分钟计数[同位素脉冲]
cRNA	chromosomal RNA 染色体 RNA
cRNA	complementary RNA 互补 RNA
CTP	cytidine triphosphate 胞苷三磷酸
Cys; C	cysteine 半胱氨酸

Cyt	cytosine 胞嘧啶
d-	dextro- 右旋的
2,4-D	2,4-dichlorophenoxyacetic acid 2,4-滴; 2,4-二氯苯氧乙酸
dA; dAdo	deoxyadenosine 脱氧腺苷
dAMP	deoxyadenylic acid 脱氧腺苷酸
DBC	N ⁶ -2'-O-dibutyryl adenosine-3'; 5'-monophosphate 双丁酰环腺苷酸
dC; dCyd	deoxycytidine; cytosine deoxyriboside 脱氧胞苷
DCC; DCCI	dicyclohexylcarbodiimide 二环己基碳二亚胺
dCMP	deoxycytidylic acid 脱氧胞苷酸
DCMU	3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea 二氯苯(基)二甲脲
DCU	dicyclohexylurea 二环己脲
DFP	diisopropyl fluorophosphate 二异丙基氟磷酸
dG; dGuo	deoxyguanosine 脱氧鸟苷
dGMP	deoxyguanylic acid 脱氧鸟苷酸
dIMP	deoxyinosine-5'-monophosphate 脱氧次黄苷酸; 脱氧肌苷酸
dITP	deoxyinosine triphosphate 脱氧次黄苷三磷酸
DNA	deoxyribonucleic acid 脱氧核糖核酸
DNase	deoxyribonuclease 脱氧核糖核酸酶
DNP	[1] dinitrophenol 二硝基苯酚 [2] DNA-protein complex DNA 蛋白复合物
DOPA	3,4-dihydroxyphenylalanine 3,4-二羟苯丙氨酸; 多巴
DPN	diphosphopyridine nucleotide 二磷酸吡啶核苷酸
ds DNA	double strand DNA 双链 DNA
ds RNA	double strand RNA 双链 RNA
DTT	dithiothreitol 二硫苏糖醇
ECG; EKG	electrocardiogram 心电图
EDTA	editic acid; ethylene diaminetetraacetic acid 乙二胺

	四乙酸
FGTA	ethyleneglycol-bis (β -aminoethyl ether)-N,N'-tetraacetic acid 乙二醇双乙胺醚-N, N'-四乙酸
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay 酶标记免疫吸附测定法
EMG	electromyogram 肌电图
EMP	Embden-Meyerhof-Parnas pathway EMP途径; 糖酵解途径
ER	endoplasmic reticulum 内质网
FAD	flavin adenine dinucleotide 黄素腺嘌呤二核苷酸
FFA	free fatty acid 游离脂肪酸; 非酯化脂肪酸
FMN	flavin mononucleotide 黄素单核苷酸
FRF; FRH	follicle stimulating hormone releasing factor 促滤泡素释放素
FSH	follicle-stimulating hormone 促滤泡素
5-FU	5-fluorouracil 5-氟尿嘧啶
G; Guo	guanosine 鸟(嘌呤核)苷
GAR	glycinamide ribonucleotide 甘氨酸胺核苷酸
GDP	guanosine diphosphate 鸟苷二磷酸
GH	growth hormone 生长激素
GHRF	growth hormone releasing factor 生长激素释放因子
GIP	gastric inhibitory polypeptide 肠抑胃肽
Gln; Q	glutamine 谷氨酰胺
Glu; E	glutamic acid 谷氨酸
Gly; G	glycine 甘氨酸
GMP	guanylic acid 鸟苷酸
GOT	glutamic-oxalacetic transaminase 谷(氨酸)草(酰乙酸)转氨酶
G6PD	glucose-6-phosphate dehydrogenase 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶
GPT	glutamic-pyruvic transaminase 谷(氨酸)丙(酮酸)转

氨基酸

GRIF(SRIP)	growth hormone release inhibitory factor	生长激素 释放抑制因子
GSH	glutathione	还原型谷胱甘肽
GSSG	glutathione	氧化型谷胱甘肽
Gua	guanine	鸟嘌呤
HAA	hepatitis associated antigen	肝炎相关抗原; 澳大利亚 抗原
HCG	human chorionic gonadotrophin	人绒毛膜促性腺激素
HDL	high density lipoprotein	高密度脂蛋白
HEPES	N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid	N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙烷磺酸
Hfr	high frequency recombination	高频重组
HGPRT	hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase	次 黄嘌呤鸟嘌呤转磷酸核糖基酶
HGF	hyperglycemic factor	高血糖因素
His; H	histidine	组氨酸
HMG-CoA	β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA	β -羟- β -甲基戊二 酸单酰辅酶A
HMM	hexamethylolmelamine	六羟甲基三聚氰胺
HnRNA	heterogeneous nuclear RNA	不均一核 RNA
5-HT	5-hydroxytryptamine; serotonin	5-羟色胺
Hyp	hydroxyproline	羟脯氨酸
I; Ino	inosine	次黄苷; 肌苷
IAA	indole-3-acetic acid	吲哚-3-乙酸
ICSH(LH)	interstitial cell-stimulating hormone	促黄体成素; (促 间质细胞激素)
Il; I	isoleucine	异亮氨酸
IGF	insulin-like growth factor	胰岛素样生长因子; 不被 压制胰岛素样活性多肽
IMP	inosinic acid	次黄苷酸; 肌苷酸

ITP	inosine triphosphate 次黄苷三磷酸
JH	juvenile hormone 保幼激素
KKcat	catalytic rate constant 催化速度常数
Km	Michaelis constant 米氏常数
I-	l(a)evo- 左旋的
LAP	leucine aminopeptidase 亮氨酸氨肽酶
LATS	long acting thyroid stimulator 长效甲状腺刺激因子
LDH	lactic dehydrogenase; lactate dehydrogenase 乳酸脱氢酶
LDL	low density lipoprotein 低密度脂蛋白
LETS protein	large external transformation sensitive protein (大) 外转化敏感蛋白
Leu; L	leucine 亮氨酸; 白氨酸
LH(ICSH)	luteinizing hormone 促黄体(生成)激素
LSD	lysergic acid diethylamide 麦角酰二乙胺
LTH	luteotropic hormone 催乳激素
Lys; K	lysine 赖氨酸
MAK	methylated albumin kieselguhr 甲基清蛋白硅藻土
Met; M	methionine 甲硫氨酸; 蛋氨酸
6MP	6-mercaptapurine 6-巯基嘌呤
5-MOT	5-methoxy tryptamine 5-甲氧色胺
mRNA	messenger RNA 信使RNA; 信息 RNA
MSH	melanocyte stimulating hormone; melanophore stimulating hormone 促黑(素细胞)激素
mtRNA	mitochondrial RNA 线粒体RNA
NAD	nicotinamide adenine dinucleotide 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸
NBT	nitroblue tetrazolium 氮蓝四唑
NADP	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸

NEFA	non-esterified fatty acid	非酯化脂肪酸, 游离脂肪酸
ng	nanogram	纳克, 毫微克(10^{-9} 克)
NGF	nerve growth factor	神经生长因子
NMN	nicotinamide mononucleotide	烟酰胺单核苷酸
NMR	nuclear magnetic resonance	核磁共振
NPN	non-protein nitrogen	非蛋白氮
NSILA	non-suppressible insulinlike active peptide	不被压制胰岛素样活性多肽; 胰岛素样生长因子
oc-DNA	open circular-DNA	开环DNA
OD	optical density	光密度
ONPF	2-nitrophenyl- β -D-fucoside	2-硝基苯- β -D-岩藻糖苷
ONPG	O-nitrophenyl- β -D-galactoside	邻硝基苯- β -D-半乳糖苷
ORD	optical rotatory dispersion	旋光色散
Pg	picogram	皮克; 微微克(10^{-12} 克)
PCMB	p-chloromercuribenzoate	对氯高汞苯甲酸
PG	prostaglandin	前列腺素
PGA	pteroylglutamic acid	蝶酰谷氨酸; 叶酸; 维生素B ₁₂
PHA	phytohemagglutinin	植物凝集素
Phe; F	phenylalanine	苯丙氨酸
PNA	pentose nucleic acid	戊糖核酸
Poly(A)	polyadenylic acid	多聚腺苷酸
Poly(U)	polyuridylic acid	多聚尿苷酸
Poly I-C	polyinosinic acid-polycytidylic acid	多聚肌苷酸多聚胞苷酸
ppGpp	guanosine tetraphosphate	鸟苷四磷酸
PPLO	pleuropneumonia-like organism	类胸膜肺炎生物
pppGpp	guanosine pentaphosphate	鸟苷五磷酸
Pro; P	proline	脯氨酸

PRPP	phosphoribosylpyrophosphate 磷酸核糖焦磷酸
P site	peptidyl site 肽基部位
PSP	phenolsulfonphthalein 酚磺酞; 酚红
PTC	phenylthiocarbamyl- 苯氨基硫甲酰基
PTH	3-phenyl-2-thiohydantoin 乙内酰苯硫脲
PVP	polyvinylpyrrolidone 聚乙烯吡咯烷酮
RNA	ribonucleic acid 核糖核酸
RNP	ribonucleoprotein 核糖核蛋白
RQ	respiratory quotient 呼吸商
rRNA	ribosomal RNA 核蛋白体RNA; 核糖体RNA
SAM	S-adenosylmethionine S-腺苷甲硫氨酸
SDS	sodium dodecyl sulfate 十二烷(基)硫酸钠
SEM	scanning electron microscope 扫描电镜
Ser; S	serine 丝氨酸
snRNA	stable nuclear RNA 核稳定RNA
SPCA	serum prothrombin conversion accelerator (凝血酶原)转变加速因子; 因子VII
SRF; SRH	somatotropin releasing factor; somatotropin releasing hormone 生长激素释放因子; 生长激素释放激素
SRIF	somatotropin release inhibitory factor 生长激素(释放的)抑制因子
sRNA	soluble RNA 可溶性RNA
SV	simian virus 猴肾病毒
2,4,5T	2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid 2,4,-三氯苯氧乙酸
T; dT	deoxythymidine 脱氧胸苷
TAPS	N-trihydroxymethylmethylaminopropane sulfonic acid N-三-(羟甲基)甲基氨丙磺酸
TBG	thyroid binding globulin 结合甲状腺球蛋白
TCA	trichloroacetic acid 三氯乙酸
TDP	thymidine diphosphate 胸苷二磷酸

TEMED	N,N,N',N'-tetramethyl ethylene diamine N,N,N',N'-四甲基乙二胺
TEPP	tetraethylpyrophosphate 焦磷酸四乙酯; 特普
6TG	6-thioguanine 6-硫代鸟嘌呤; 6-硫基鸟嘌呤
TH	thyrotropic hormone 促甲状腺激素
Thr; T	threonine 苏氨酸
TMP; dTMP	deoxythymidylic acid 脱氧胸苷酸
TMV	tobacco mosaic virus 烟草花叶病毒; 烟草斑纹病毒
TONPG	O-nitrophenyl- β -D-thiogalactoside 邻硝基苯- β -D-硫代半乳糖苷
TPN	triphosphopyridine nucleotide 三磷酸吡啶核苷酸
TRF	thyrotropin releasing factor 促甲状腺激素释放因子
TRIS; TRAM	N-tris(hydroxymethyl)aminomethane N-三(羟甲基)氨基甲烷
tRNA	transfer RNA 转移RNA
Trp; W	tryptophan(e) 色氨酸
Tyr; Y	tyrosine 酪氨酸
U; Urd	uridine 尿(嘧啶核)苷
UDP	uridine diphosphate 尿苷二磷酸
UDPG	uridine diphosphate glucose 尿苷二磷酸葡萄糖
UMP	uridine monophosphate; uridylic acid 尿苷酸; 尿苷一磷酸
Ura	uracil 尿嘧啶
UTP	uridine triphosphate 尿苷三磷酸
Val; V	valine 缬氨酸
VCR	vincristine 长春新碱
VHDL	very high density lipoprotein 极高密度脂蛋白
VLB	vinblastine 长春花碱
VLDL	very low density lipoprotein 极低密度脂蛋白
VSV	vesicular stomatitis virus 水泡性口膜炎病毒
X; Xao	xanthosine 黄(嘌呤核)苷

Xan	xanthine 黄嘌呤
XG	5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactoside 5-溴-4-氯-3-吲哚- β -D半乳糖苷
XMP	xanthylic acid; xanthosine monophosphate 黄苷酸

二、常用字尾表

-al	醛	-ol	醇
-ane	饱和烃; 烷(烃)	-oma	瘤; 癌
-ase	酶	-one	酮
-ectomy	切除	-ose	糖
-ene	烯	-oside	糖苷
-enol	烯醇	-osis	增多(症)
-gen	原	-osone	邻酮醛糖
-genin	配基	-penia	减少(症)
-less	无; 缺乏	-itis	炎(症)
-(a)emia	血	-uria	尿
-mycin	霉素		

三、十进位数量词头及符号表

词头	名称	国际符号	意义
atto-	阿; 微微微	a	$\times 10^{-18}$
femto-	飞; 毫微微	f	$\times 10^{-15}$
pico-	皮; 微微	p	$\times 10^{-12}$
nano-	纳; 毫微	n	$\times 10^{-9}$
micro-	微	μ	$\times 10^{-6}$
milli-	毫	m	$\times 10^{-3}$
centi-	厘	c	$\times 10^{-2}$
déci-	分	d	$\times 10^{-1}$
déca- deka-	十	da	$\times 10^1$
hecto-	百	h	$\times 10^2$
kilo-	千	k	$\times 10^3$

mega-	兆	M	$\times 10^6$
giga-	吉, 千兆	G	$\times 10^9$
tera-	太, 兆兆	T	$\times 10^{12}$
peta-	拍, 千兆兆	P	$\times 10^{15}$
exa-	艾, 兆兆兆	E	$\times 10^{18}$

四、希腊字母表

字 母		名 称	读 音
Α	α	alpha	[ˈælfə]
Β	β	beta	[ˈbi:tə, ˈbeɪtə]
Γ	γ	gamma	[ˈgæmə]
Δ	δ	delta	[ˈdeltə]
Ε	ε	epsilon	[epˈsaɪlən, ˈepsɪlən]
Ζ	ζ	zeta	[ˈzi:tə]
Η	η	eta	[ˈi:tə, ˈeɪtə]
Θ	θ	theta	[ˈθi:tə]
Ι	ι	iota	[aiˈoʊtə]
Κ	κ	kappa	[ˈkæpə]
Λ	λ	lambda	[ˈlæmdə]
Μ	μ	mu	[mju:]
Ν	ν	nu	[nju:]
Ξ	ξ	xi	[gzai, kasai, zai]
Ο	ο	omicron	[ouˈmaɪkren]
Π	π	pi	[pai]
Ρ	ρ	rho	[rou]
Σ	σ	sigma	[ˈsɪgmə]
Τ	τ	tau	[tə:]
Υ	υ	upsilon	[juːˈsaɪlən, ˈjuːpsɪlən]
Φ	φ	phi	[fai]
Χ	χ	chi	[kai]
Ψ	ψ	psi	[psai]
Ω	ω	omega	[ˈoʊmɪgə]

实 验

实验须知

一、实验课的目的

1. 培养研究自然科学的正确态度和严谨的思考路线。
2. 以实验证明生物化学的基本理论，加深对基本理论的理解。
3. 掌握生物化学的基本研究方法，学习根据基本理论和工作要求设计实验。

二、预习

学生在每次实验之前必须对实验内容进行预习，了解实验的目的、原理和操作步骤，懂得每一操作步骤的意义，了解需用仪器的使用方法。只有达到预习要求的同学才能参加实验。

三、实验操作

为了得到良好的实验结果，并提高效率，应注意下列各点：

1. 勿取用过量的实验材料及试剂。
2. 根据实验要求使用适当精度级别的量具。例如，必须准确定量加入的溶液应该用吸量管量取；而有些实验用量筒取液已足够准确时，则不应用吸量管。
3. 试剂取用后必须立即将瓶塞盖好，放回原处。自瓶中取出的试剂和标准溶液，如未用尽，切勿倒回瓶内，以免混杂。

四、珍惜仪器

天平、分光光度计、电泳仪、定氮仪、离心机等成套仪器，使用

前应熟读使用方法,使用时应细心爱护,严格按操作规程使用。发生故障时应立刻报告教师,不得擅自处理。

五、实验记录及实验报告

实验过程中,必须把实验数据、观察到的现象和结果随时记在实验记录本上。实验后整理出实验报告,文字要简炼准确,根据实验内容,可采用叙述或图表等形式。某些实验装置需绘图。

六、整洁

清洁整齐为工作之必要习惯,必须养成。实验台上、抽屉和橱内必须整洁,放置仪器、药品要有次序。本次实验不需用的仪器、试剂,不要放在实验台上,以免妨碍操作。勿把试剂和实验材料抛洒在桌面和地上。实验完毕,须将试剂瓶和材料排列整齐,将仪器洗净放好,并把桌面抹拭干净。经教师检查后方得离开实验室。

七、废物处理

一般废液倒入水沟内放水冲走;强酸强碱废液须先用水稀释,然后倒入废品缸内;废纸、火柴棍、带有渣滓的废液和其他固体废物,均应倒入废品缸内,不许抛在地上。

八、注意安全

勿将醚类、乙醇等易燃液体接近火焰。对易燃液体加热必须用水浴,使用电炉加热水浴,不可用火焰烧煮水浴,更不可用火焰直接加热。遇有火险,必须镇静处理,先切断电源,隔离易燃物品,再用砂土或灭火器灭火,若衣服着火,用水浇或就地一滚灭火。

实验一 蛋白质及氨基酸的呈色反应

目的和要求

1. 了解几种常用的鉴定蛋白质与氨基酸的方法及其原理。了解蛋白质的基本结构单位的主要连接方式。

2. 掌握一些鉴定氨基酸的特殊颜色反应及其原理。

蛋白质分子中的某种或某些基团与显色剂作用，可产生特定的颜色反应。不同蛋白质所含氨基酸不完全相同，颜色反应亦可不同。颜色反应不是蛋白质的专一反应，一些非蛋白质物质亦可产生相同的颜色反应，因此不能仅根据颜色反应的结果决定被测物是否是蛋白质。颜色反应是一些常用的蛋白质定量测定的依据。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 试管及试管架。
2. 试管夹。
3. 滴管。
4. 水浴锅。
5. 电炉。

二、试剂和材料

1. 蛋白质溶液：将鸡(鸭)蛋白用蒸馏水稀释 20 倍，用 2—3 层纱布过滤，滤液冷藏备用。

2. 0.1% 苯酚溶液。

3. 1% 白明胶液：1 g 白明胶溶于少量热水，完全溶解后，稀释至 100 ml。

4. 米伦(Millon)氏试剂：40 g 汞溶于 60 ml 浓硝酸(比重 1.42)，水浴加温助溶，溶解后加二倍体积蒸馏水，混匀，静置澄清，取上清液备用。此试剂可长期保存。

5. 0.1% 茚三酮溶液：0.1 g 茚三酮溶于 95% 乙醇并稀释至 100 ml。

6. 尿素：如颗粒较粗，最好研成细粉末状。

7. 10% NaOH 溶液。

8. 浓硝酸，比重 1.42。

9. 1% CuSO₄ 溶液。

10. 浓硫酸(A.R.)。

11. 冰醋酸(C.P.)。

12. 0.5%谷氨酸钠溶液。

13. 0.5%醋酸铅溶液。

14. 浓盐酸。

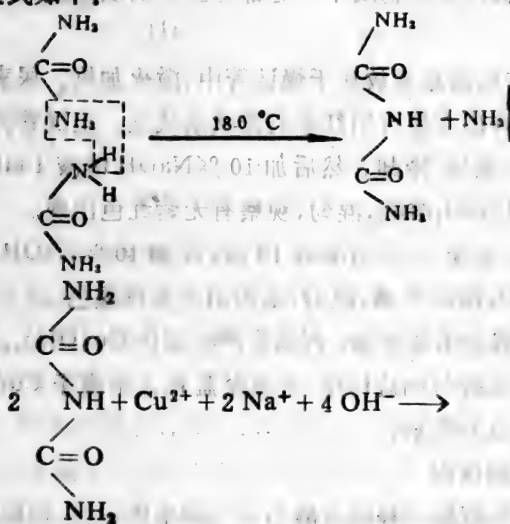
15. 红色石蕊试纸。

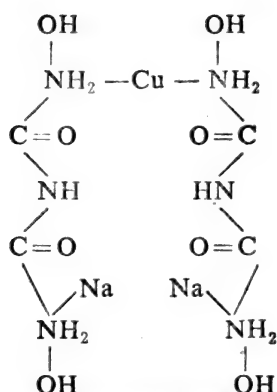
呈色反应：

一、双缩脲反应

原理 如将尿素加热，则两分子尿素放出一分子氨而形成双缩脲。双缩脲在碱性环境中，能与硫酸铜结合成红紫色的络合物，此反应称为双缩脲反应。蛋白质分子含有多个肽键与双缩脲结构相似，故能呈此反应，形成紫红或蓝紫色的络合物。由小肽形成的络合物颜色偏红。双缩脲反应可用于鉴定蛋白质的存在及蛋白质水解是否完全，用比色法可作蛋白质的定量测定。

反应式如下，





铜-钠-双缩脲络合物

应当注意，一些含有一个肽键和一个 $-\text{CS}-\text{NH}_2$ ， $-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ ， $-\text{CHNH}_2-\text{CH}_2\text{OH}$ ， $-\text{CRH}-\text{NH}_2$ 或 $-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{NH}_2$ 等基团的物质，以及乙酰胺 ($\text{O}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$) 等物质也有相似反应。因此，虽然一切蛋白质和三肽以上的多肽都有双缩脲反应，但有双缩脲反应的物质不一定是蛋白质或多肽。

操作

1. 取少许结晶尿素放在干燥试管中，微火加热，尿素熔化并形成双缩脲，释出之氨可用红色石蕊试纸试之。至试管内有白色固体出现，停止加热，冷却。然后加 10% NaOH 溶液 1 ml 摇匀，再加 2 滴 1% CuSO_4 溶液，混匀，观察有无紫红色出现。

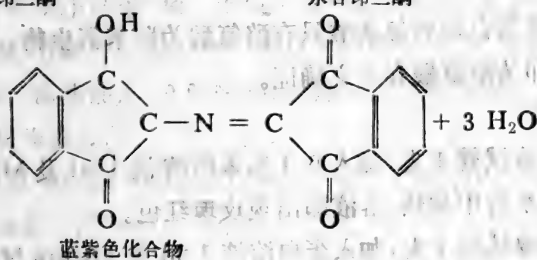
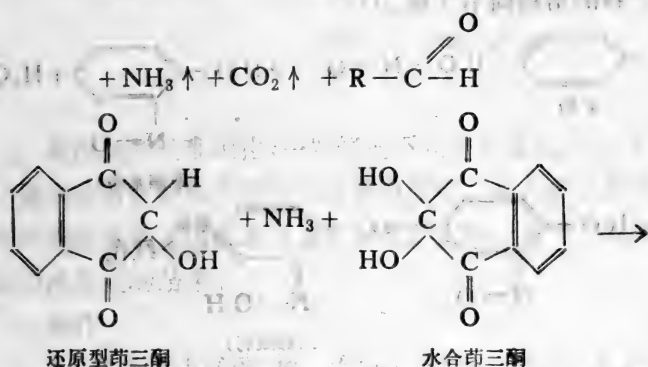
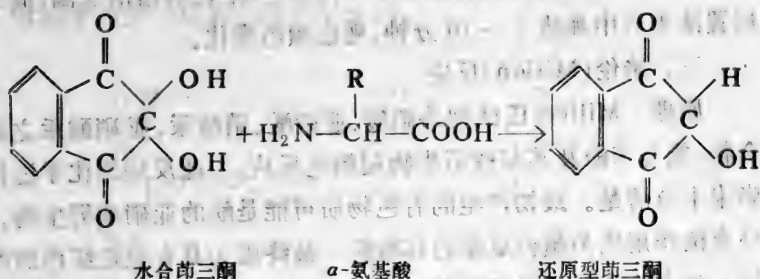
2. 另取一试管，加蛋白溶液 10 滴，再加 10% NaOH 溶液 10 滴及 1% CuSO_4 溶液 2 滴，混匀，是否出现紫玫瑰色。

注意：硫酸铜不能多加，否则将产生蓝色 $\text{Cu}(\text{OH})_2$ 。此外在碱溶液中氨或铵盐与铜盐作用，生成深蓝色之络离子 $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ 妨碍此颜色反应的观察。

二、茚三酮反应

原理 除脯氨酸和羟脯氨酸与茚三酮生成黄色物质外，所有

α -氨基酸都能和茆三酮反应生成蓝紫色化合物。反应机理如下，



此反应十分灵敏，1:1,500,000 浓度的氨基酸水溶液即能给出反应。此反应的适宜 pH 为 5—7。此反应已广泛地应用于氨基酸的定量测定。

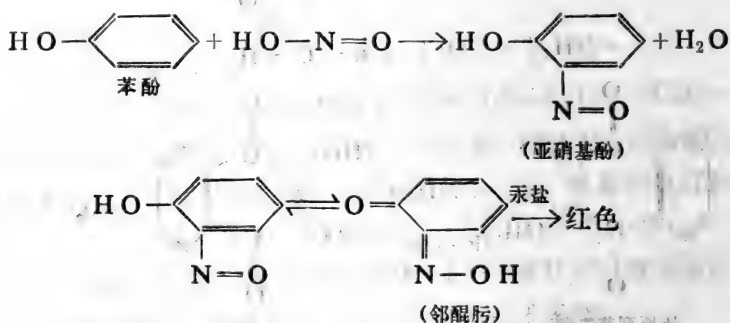
氨、 β -丙氨酸和许多一级胺都呈阳性反应。尿素、马尿酸和肽链上的亚氨基呈阴性反应。蛋白质与茆三酮仅呈弱阳性反应。

操作 取 2 支试管，分别加入 1 ml 蛋白溶液及 0.5% 谷氨酸

钠溶液 5 滴。再向两试管添加 0.1 % 茛三酮-乙醇溶液 2 滴, 混匀后置沸水浴中加热 5 — 10 分钟, 观察颜色变化。

三、米伦(Millon)反应

原理 Millon 氏试剂为硝酸、亚硝酸、硝酸汞、亚硝酸汞之混合物, 能与苯酚及其某些衍生物起颜色反应。此反应的化学过程尚未十分清楚。最初产生的有色物质可能是酚的亚硝基衍生物, 经变位作用成为颜色更深的邻醌肟, 最终成为具有稳定红色的产物, 此产物的结构尚不了解。



组成蛋白质的氨基酸只有酪氨酸为羟苯衍生物, 因此具有该反应者即为酪氨酸存在之确证。

操作

1. 取试管 1 支, 加入 0.1 % 苯酚溶液 1 ml 及 Millon 试剂 2 滴, 置沸水浴中加热, 溶液即出现玫瑰红色。

2. 取试管 1 支, 加入蛋白溶液 1 ml 及 Millon 试剂 2 滴, 此时出现蛋白质沉淀(因试剂中含汞盐及硝酸), 置沸水浴中加热, 凝固的蛋白质出现红色。

3. 用 1 % 白明胶(也是一种蛋白质)作上述试验, 观察现象, 并解释之。

四、黄色反应

原理 蛋白质分子中含有苯核结构的氨基酸(如酪氨酸、色

氨酸等),遇浓硝酸可硝化成黄色的硝基苯衍生物,此物质在碱性溶液中转变为桔黄色的硝酞酸钠。



苯丙氨酸较难硝化,一般情况下几乎无黄色反应,若同时加入少量浓硫酸,则能得到明显的黄色反应。绝大多数蛋白质都含有芳香族氨基酸,因此都有黄色反应。皮肤、指甲等遇浓硝酸变黄即为此反应的结果。

操作

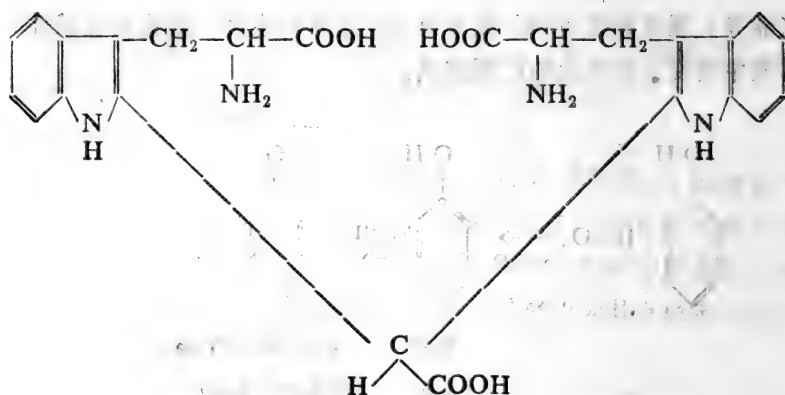
1. 取1支小试管,加入蛋白溶液约0.5 ml及浓硝酸2滴,由于强酸作用,出现蛋白质沉淀。置沸水浴中加热,沉淀变成黄色。取出冷却后,逐滴加入10% NaOH溶液,当试管中溶液呈碱性时,沉淀即转变为桔黄色。

2. 剪取少许指甲和头发,分别放入2支试管中,各加入数滴浓硝酸,放置一段时间后观察颜色变化。

五、乙醛酸反应

原理 当向蛋白质溶液中加入乙醛酸 ($\text{H}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}(=\text{O})-\text{OH}$)

并用硫酸重迭时,则产生红紫色。此反应与蛋白质分子中的色氨酸有关。显色物质可能是醛与两个分子色氨酸脱水缩合形成与靛蓝相似的物质。

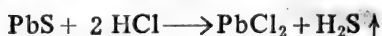
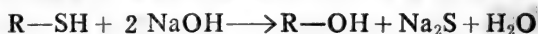


冰醋酸一般都含有乙醛酸杂质，故可用冰醋酸代替乙醛酸。

操作 取 2 支试管，分别加入蛋白质溶液 0.5 ml 和 1 % 白明胶溶液 0.5 ml，再各添加冰醋酸约 1 ml，摇匀，倾斜试管，谨慎地沿管壁加入浓硫酸(A.R.)约 1 ml，使之重叠而不混合，放置后观察两液界面上出现红紫色环。若不明显，可于水浴中微热。

六、醋酸铅反应

原理 蛋白质分子中常含有半胱氨酸和胱氨酸，含硫蛋白质在强碱作用下分解形成硫化钠。硫化钠与醋酸铅反应生成黑色的硫化铅沉淀。若加入浓盐酸，就生成有臭味的硫化氢气体。



甲硫氨酸对强碱相当稳定，不发生此反应。

操作 向试管中先加 0.5 % $\text{Pb}(\text{Ac})_2$ 溶液约 1 ml，然后慢慢滴加 10 % NaOH 溶液，直到产生的沉淀溶解为止。摇匀后，再加蛋白溶液数滴再摇匀，置水浴中加热，溶液变黑。待冷后小心加入数滴浓盐酸。嗅其味，判断是什么物质？

实验二 蛋白质的沉淀反应

及等电点的测定

I. 蛋白质的沉淀反应

目的和要求

1. 加深对蛋白质胶体溶液稳定因素的认识。
2. 区分可逆沉淀作用及不可逆沉淀作用,了解它们在实际工作中的应用。

原理

在水溶液中蛋白质分子的表面由于形成水化层和双电层而成为稳定的胶体颗粒。蛋白质水溶液是亲水胶体溶液,其稳定性是有条件的,相对的。在一定的物理化学因素影响下,蛋白质胶粒失去电荷,脱水,甚至变性而丧失稳定因素,即以固态形式从溶液中析出,这种作用称为蛋白质的沉淀反应。蛋白质的沉淀反应可以分为以下两种类型:

1. 可逆沉淀反应:在沉淀反应发生以后,蛋白质分子内部结构并未发生显著变化,基本上保持原有的天然性质。如将致使沉淀的因素除去后,蛋白质沉淀可再溶于原来的溶剂中。这类沉淀反应称为可逆沉淀反应。例如盐析作用、利用等电点沉淀蛋白质及在低温下用乙醇或丙酮短时间作用于蛋白质的反应等。

2. 不可逆沉淀反应:在发生沉淀反应时,蛋白质分子内部结构发生重大改变,特别是空间结构遭到破坏,失去其天然性质。蛋白质因变性而形成的沉淀不能再溶于原来的溶剂中。这类沉淀反应称为不可逆沉淀反应。重金属盐、生物碱试剂、强酸、强碱、加热、震荡、超声波、有机溶剂等都能使蛋白质发生不可逆沉淀。

蛋白质变性后,有时由于维持溶液稳定的条件仍然存在(如电荷),并不析出。因此变性蛋白质并不一定都沉淀析出,而沉淀的蛋白质也不一定都已变性。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 试管及试管架
2. 滴管
3. 玻棒
4. 离心机和离心管
5. 药匙

二、试剂和材料

1. 蛋白质氯化钠溶液:取 20 ml 鸡蛋清,加蒸馏水 200 ml 和饱和氯化钠溶液 100 ml,顺一个方向充分搅匀后用 2—3 层纱布过滤,滤液冷藏备用。加氯化钠能促进球蛋白溶解。
2. 饱和硫酸铵溶液。
3. 硫酸铵粉末。
4. 95%乙醇。
5. 蛋白质溶液:见实验一蛋白质溶液。
6. 2% AgNO_3 溶液。
7. 0.5% 醋酸铅溶液。
8. 1% CuSO_4 溶液。
9. 10% 三氯乙酸溶液。
10. 5% 鞣基水杨酸溶液。
11. 1% 乙酸溶液。
12. 5% 鞣酸溶液。
13. 饱和苦味酸溶液。

蛋白质的沉淀反应:

一、蛋白质盐析作用

向蛋白质溶液中加入中性盐至一定浓度，蛋白质即沉淀析出，这种作用称为盐析。

操作 取 10 ml 离心管一支，加入蛋白质氯化钠溶液 3 ml 和饱和硫酸铵溶液 3 ml (此时硫酸铵的浓度为 50% 饱和)，混匀，静置数分钟，可看到球蛋白沉淀析出。离心 5 分钟 (2000 r/min)，上清液倾入另一支 10 ml 离心管。取少许球蛋白沉淀，加少量水，搅拌，观察沉淀溶解。向盛上清的离心管中添加硫酸铵粉末到不再溶解为止，静置，清蛋白沉淀析出。离心 5 分钟 (2000 r/min)，弃去上清液，加少量水，搅拌，观察沉淀溶解。

试对实验过程及现象讨论分析。

二、酒精沉淀蛋白质

乙醇、丙酮等一类有机溶剂能破坏蛋白质胶体颗粒的水化层，使蛋白质沉淀析出。如果溶液中有少量中性盐 (如氯化钠)，可加速沉淀并使沉淀完全。

操作 取蛋白质氯化钠溶液 1 ml，加入 95% 乙醇 2 ml，混匀，观察沉淀析出。

三、重金属盐沉淀蛋白质

蛋白质与重金属离子 (如 Cu^{2+} 、 Ag^{+} 、 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 等) 结合成不溶性盐类而沉淀。

操作 取 3 支试管，均加入约 1 ml 蛋白质溶液，再分别向 3 支试管逐滴加入 2% AgNO_3 溶液，0.5% 醋酸铅溶液，1% CuSO_4 溶液，观察沉淀生成。

四、生物碱试剂沉淀蛋白质

生物碱是植物体内具有显著生理作用的一类含氮碱性化合物。凡能使生物碱沉淀或与生物碱发生颜色反应的物质，都称为生物碱试剂。如鞣酸、苦味酸、磷钨酸等。在酸性环境中，蛋白质以正离子形式与试剂中的负离子发生反应，形成不溶性复合物。

操作 取2支试管，各加蛋白质溶液1 ml及1%醋酸2滴，向一管中加5%鞣酸溶液2滴，另向一管中加饱和的苦味酸溶液4滴，振荡，观察蛋白质沉淀析出。

五、有机酸沉淀蛋白质

有机酸负离子与蛋白质正离子反应生成沉淀。此是从溶液中沉淀蛋白质的常用方法。

操作 取2支试管，均加入蛋白质溶液约1 ml，然后分别滴加10%三氯乙酸和5%磺基水杨酸溶液3滴，蛋白质即沉淀析出。摇匀后，放置片刻，倾去上清液，向沉淀加入少量水，观察沉淀是否溶解。

II. 蛋白质等电点的测定

目的和要求

1. 了解蛋白质的两性解离性质。
2. 学习测定蛋白质等电点的初步方法。

原理

蛋白质由许多氨基酸组成，虽然绝大多数的氨基与羧基形成肽键，但是总有一定数量自由的氨基与羧基，还有酚基、巯基、胍基、咪唑基等酸碱基团，因此蛋白质和氨基酸一样是两性电解质。在溶液中，蛋白质分子的解离状态和解离程度受溶液的酸碱度影响。调节溶液的pH达到一定数值时，蛋白质分子所带的正负电荷数目相等，以兼性离子状态存在，在电场中该蛋白质分子既不向正极移动，也不向负极移动，这时溶液的pH值称为该蛋白质的等电点(pI)。不同蛋白质各有其特异的等电点。在等电点时蛋白质溶解度最小，容易沉淀析出。

本实验用醋酸与醋酸钠(醋酸钠混合在酪蛋白溶液中)配制成各种pH值的缓冲液，观察酪蛋白在不同pH值的缓冲液中的溶解度，沉淀出现最多者其pH值即为酪蛋白的等电点。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 试管及试管架

2. 吸量管 (1 ml 1 支、2 ml 1 支、5 ml 3 支)。

二、试剂和材料

1. 酪蛋白醋酸钠溶液：称取纯酪蛋白 0.25 g，加蒸馏水 20 ml 及 1.00 mol/L NaOH 溶液 5.0 ml (必须准确)，摇荡使酪蛋白溶解。然后加 1.00 mol/L 醋酸 5.0 ml (必须准确)，倒入 50 ml 容量瓶内。用蒸馏水稀释至刻度，混匀。结果是酪蛋白溶于 0.10 mol/L 醋酸钠溶液内，酪蛋白的浓度为 0.5%。

2. 1.00 mol/L 醋酸溶液。

3. 0.10 mol/L 醋酸溶液。

4. 0.01 mol/L 醋酸溶液。

操作

1. 取 8 支 Φ 20 mm 的干燥试管，编号后按下表的顺序准确地加入各种试剂，摇匀。

试 管 编 号	1	2	3	4	5	6	7	8
加入的试剂								
蒸馏水 (ml)	2.4	3.2	—	2.0	3.0	3.5	1.5	2.75
1.00 mol/L HAc (ml)	1.6	0.8	—	—	—	—	—	—
0.10 mol/L HAc (ml)	—	—	4.0	2.0	1.0	0.5	—	—
0.01 mol/L HAc (ml)	—	—	—	—	—	—	2.5	1.25
酪蛋白醋酸钠溶液 (ml)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
溶液的最终 pH	3.5	3.8	4.1	4.4	4.7	5.0	5.3	5.6
沉淀出现的情况								

2. 静置约 20 分钟，观察每支试管内溶液混浊度，以—，+，++，+++，++++等符号表示沉淀的多少，根据观察结果，指出哪一个 pH 是酪蛋白的等电点。

附注：本实验要求各种试剂的浓度和加入量必须相当准确。除了需要精心配制试剂以外，实验中应严格按照定量分析的操作进行，为了保证实验的重现性，或为了进行大批量的测定，可以事先按照上述的比例配制成大量的 8 种不同浓度的醋酸溶液。实验时分别准确吸取 4 ml 各种浓度的醋酸溶液，再各加入 1 ml 酪蛋白醋酸钠溶液。

实验三 福林(Folin)-酚试剂法 测定蛋白质的含量

目的和要求

1. 学习 Folin-酚试剂法测定蛋白质含量的基本原理和方法。
2. 学习 721 型分光光度计的使用方法。

原理

Folin-酚试剂由两部分组成。试剂 A 相当于双缩脲试剂，可与蛋白质中的肽键起显色反应。试剂 B 是磷钨酸、磷钼酸、硫酸锂和溴的复杂混合物，在碱性条件下极不稳定，易被酚类化合物还原生成蓝色的钼蓝和钨蓝混合物。由于蛋白质中含有酪氨酸或色氨酸，能与 Folin-酚试剂反应，所生成的蓝色的深浅与蛋白质浓度成正比，可用比色法测定蛋白质浓度。本法的灵敏度较双缩脲法灵敏 100 倍。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 721 型（或 72 型）分光光度计。
2. 试管及试管架。
3. 吸量管（0.5 ml 4 支、0.1 ml 2 支、0.2 ml 2 支、5.0 ml 1 支）。

二、试剂和材料

1. Folin-酚试剂A：由下述四种溶液配制。① 4% 碳酸钠溶液，② 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液；③ 1% 硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)溶液，④ 2% 酒石酸钾钠溶液。在使用前将①与②等体积混合配成碳酸钠-氢氧化钠溶液；将③与④等体积混合配成硫酸铜-酒石酸钾钠溶液。然后，将这两种溶液按 50:1 的比例混合，即为 Folin-酚试剂甲。该试剂只能用一天，过期失效。

2. Folin-酚试剂B：将 100 g 钨酸钠($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、25 g 钼酸钠($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、700 ml 蒸馏水、50 ml 85% 磷酸及 100 ml 浓盐酸置于 1500 ml 磨口圆底烧瓶中，充分混匀后，接上磨口冷凝管，回馏 10 小时。再加入硫酸锂 150 g，蒸馏水 50 ml 及液溴数滴，开口煮沸 15 分钟，驱除过量的溴（在通风橱内进行）。冷却，稀释至 1000 ml，过滤，滤液呈微绿色，贮于棕色瓶中。临用前，用 Folin-酚试剂 B 滴定标准氢氧化钠溶液（1 mol/L 左右），以标定 Folin-酚试剂 B 液的酸度。以酚酞为指示剂，当溶液颜色由红变为紫红、紫灰、再突然转变成墨绿时，即为终点。该试剂酸度一般为 2 mol/L 左右，此为贮存液。也可用标准氢氧化钠溶液滴定 Folin-酚试剂 B，但终点较难掌握。此时溶液颜色由浅黄变为浅绿，再变为灰紫为终点（由于试剂微绿，影响滴定终点的观察，可将试剂稀释 100 倍再滴定）。使用前应根据滴定结果，将试剂稀释至相当于 1 mol/L 酸，此为 Folin-酚试剂 B 应用液。

3. 卵清蛋白液：约 1 g 卵清蛋白溶于 100 ml 0.9% NaCl 溶液，离心，取上液，用克氏定氮法测定其蛋白含量。根据测定结果，用 0.9% NaCl 溶液稀释卵清蛋白溶液，使其蛋白含量为 2 mg/ml。冷藏备用。临用时准确稀释至 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

4. 未知浓度的蛋白液（样液蛋白质含量应在 0.05—0.5 mg/ml 范围内）。

操作

1. 标准曲线的绘制: 将7支干净试管编号, 按下表加入试剂:

管 号	0	1	2	3	4	5	6
卵清蛋白 (ml)	0	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
蒸馏水 (ml)	0.5	0.45	0.4	0.3	0.2	0.1	0
Folin-酚试剂A(ml)	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0

摇匀, 室温放置 10 分钟, 各管再加 Folin-酚试剂 B 0.5 ml, 30 分钟后比色(500 nm), 作光密度-蛋白浓度曲线。

2. 样液测定: 准确吸取样液 0.5 ml 置干净试管内, 加入 4ml Folin-酚试剂 A, 10 分钟后, 再加试剂 B 0.5 ml, 30 分钟后比色(500 nm), 对照标准曲线求出样液蛋白质浓度。

实验四 总氮量的测定

微量凯氏(Micro-Kjeldahl)定氮法

目的和要求

学习凯氏定氮法的原理和操作技术。

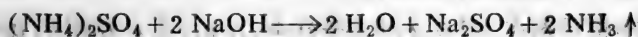
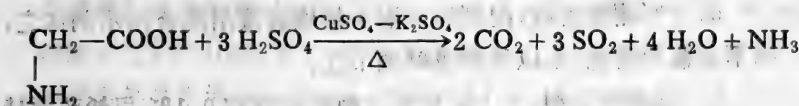
原理

含氮有机物与浓硫酸共热时, 分解出氨、二氧化碳和水。氨与硫酸作用生成硫酸铵。此过程通常称为“消化”。消化反应进行缓慢, 通常需要加入硫酸铜作为催化剂, 并加入硫酸钾或硫酸钠以提高反应液的沸点, 以促进反应的进行。过氧化氢、重铬酸钾等氧化剂也能加速反应。消化反应在凯氏烧瓶中进行。

消化完成后, 在凯氏定氮仪中用浓强碱使消化液中的硫酸铵分解放出氨, 借水蒸汽将氨蒸馏到一定量一定浓度的硼酸溶液中,

硼酸吸收氨后，溶液中氢离子浓度降低。然后用标准盐酸溶液滴定，直至恢复溶液中原来的氢离子浓度为止，所用的标准盐酸的摩尔数即相当于被测样品中氨的摩尔数。据此可计算出待测物的总氮量。

以甘氨酸为例，反应过程如下：



本法适用于测定 0.2—1.0 mg 氮，样品中含氮量过高时，则应减少取样量或将样液稀释。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 微量凯氏定氮仪。
2. 凯氏烧瓶(50 ml 3 个)。
3. 小漏斗(Φ 4 cm 3 个)。
4. 吸量管(1.0 ml 2 支、2.0 ml 1 支、5.0 ml 1 支)。
5. 锥形瓶(100 ml 4 个)。
6. 量筒(5 ml、10 ml 各 1 个)。
7. 表面皿(Φ 5 cm 3 个)。
8. 微量滴定管(5 ml, 可读至 0.02 ml)。
9. 消化架及电炉。
10. 架盘天平。
11. 小玻璃珠。
12. 试管夹。
13. 铁支台 2 个。

二、试剂和材料

1. 卵清蛋白溶液: 1 g 卵清蛋白溶于 0.9% NaCl 溶液并稀释至 100 ml。如有不溶物, 离心取上清液备用。

2. 浓硫酸(A.R.)。

3. 硫酸钾 3 份与硫酸铜 1 份(W/W)混合研磨成粉末。

4. 30%氢氧化钠溶液。

5. 2%硼酸溶液: 配制后应取少量硼酸液用混合指示剂试之, 如不呈葡萄紫色, 则以稀酸或碱调节之。

6. 混合指示剂: 0.1% 甲基红酒精溶液和 0.1% 甲基蓝酒精溶液按 4:1 比例(V/V)混合。

本指示剂在 pH 5.2 时为紫红色; 在 pH 5.4 为暗蓝(或灰)色; 在 pH 5.6 为绿色。变色点 $\text{pH}=5.4$ 。变色范围很窄 pH 5.2—5.6, 极灵敏。

7. 标准硫酸铵溶液(每 ml 含氮 0.3 mg): 称取分析纯硫酸铵 141.4 mg, 溶于少量蒸馏水, 定容至 100 ml。

8. 0.01 mol/L 标准盐酸溶液。

9. 0.1% 甲基红酒精溶液。

操作

一、消化

将三个 50 ml 克氏烧瓶编号, 一只烧瓶内加 1.0 ml 蒸馏水, 为空白试验; 另两烧瓶内加入 1.0 ml 样液(卵清蛋白液)。注意, 用吸量管直接将溶液(若试样为固体, 则用试管或纸卷加入)加至烧瓶底部, 切勿沾于瓶口及瓶颈上。然后各加硫酸钾-硫酸铜混合物约 0.2 g, 再用量筒加入分析纯浓硫酸 2 ml。烧瓶口上插一小漏斗(作冷凝用), 把以上三个烧瓶置于通风橱内的消化架或电炉上加热消化。烧瓶应倾斜 45° — 60° 。先用小火加热至沸。很快就可看到烧瓶内物质碳化变黑, 并产生大量泡沫, 此时更要注意控制火力, 不能让泡沫上升到烧瓶颈部, 否则将严重地影响样品的测定结果。当混合物停止冒泡, 蒸汽均匀地放出时, 将火力调节到使

瓶内液体微微沸腾。假如有少量样品沾于瓶颈部，可转动烧瓶利用冷凝之硫酸将样品冲至瓶底。(在消化固体样品时，要时常转动烧瓶，使全部样品都浸泡在硫酸内，以便在微沸的硫酸中不断消化。)待瓶内水汽蒸完，硫酸分解放出 SO_2 白烟，可适当加强火力，使消化液在轻度迴流的状态下进行消化，直至消化液由淡黄色变为清亮的淡蓝绿色，即消化完成，为了保证反应彻底完成，再继续加热消化约一小时，消化完毕，关闭电炉，使烧瓶冷却至室温。(并非所有样品至清亮时即表示消化完全。消化液的颜色也常因样品成分的不同而异。因此，每测一新样品时，应先试验一下需要多少时间才能使样品中的有机氮全部变成无机氮。以后即以此时间为标准。本实验需 2—3 小时，有的样品需 6—8 小时，对于一些含赖氨酸较多的蛋白样品，甚至需要 12 小时。)

二、蒸馏

1. 凯氏定氮仪的构造和安装

微量凯氏定氮仪是一套蒸馏装置，有多种式样，结构大同小异，图 1 所示的是目前较常用的一种。凯氏定氮仪由蒸汽发生器、反应器和冷凝器三部分组成。安装仪器时，先将冷凝管垂直地固定在铁支台上，冷凝管下端需能顺利地放置和取出吸收瓶。然后将反应器通过磨口连接(图中 9)与冷凝管相连，根据仪器本身的角度固定在另一铁支台上(小心勿折断反应室上端弯管!)。然后将蒸汽发生器与反应室用橡皮管连接起来。安装完毕后，不得轻易移动，以免损坏仪器。

2. 定氮仪的洗涤

一般洗涤：打开夹子 1、3，关上夹子 2，冷凝管下口不放置锥形瓶，由小玻璃杯状漏斗注入自来水冲洗反应器(反应室及贮液室)。

水蒸汽洗涤：在蒸汽发生器中盛蒸馏水，加几滴 1 mol/L H_2SO_4 酸化，并加几滴甲基红指示剂，再加入几粒小玻璃珠以防止爆沸。打开排气管上的夹子 1，关闭夹子 2。加热蒸汽发生器使水

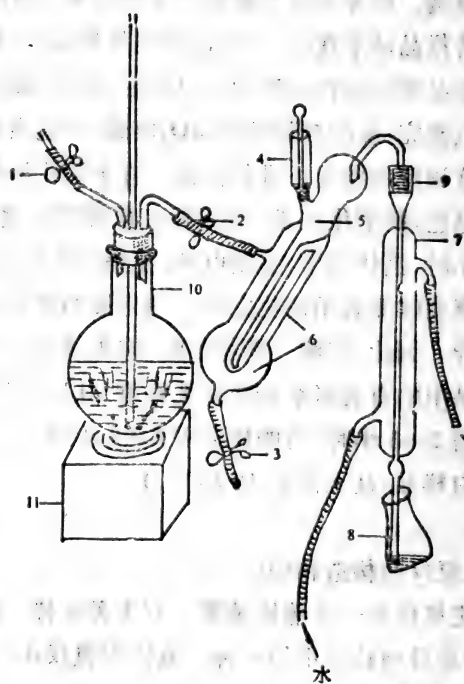


图 1 微量凯氏蒸馏装置

1, 2, 3. 夹子 4. 小玻璃杯状漏斗及棒状玻塞 5. 反应室 6. 贮液室 7. 冷凝器 8. 锥形瓶 9. 磨口连接 10. 蒸发器发生器 11. 电炉

沸腾。取四个 100 ml 锥形瓶，按一般方法洗净后，用试管夹夹住，置排气管上用蒸汽吹洗 1—2 分钟，放冷，用吸量管各加入 2% 硼酸溶液 10.0ml 及混合指示剂 4 滴，此时溶液应呈紫红色，用表面皿盖好备用。如锥形瓶内液体呈绿色，则需重新洗涤。于冷凝管下方放一只空烧杯以承受凝集的水滴。打开夹子 2，关闭夹子 1 及 3，打开棒状小玻塞 4，使蒸汽通过贮液室、反应室，吹洗小玻璃杯状漏斗几分钟。关上棒状小塞 4，使蒸汽通过冷凝管逸出，洗涤 5 分钟左右后，在冷凝管下端放一个盛有少量硼酸-混合指示剂的锥形瓶，

使冷凝管下口完全浸没于液体中,继续用蒸汽洗涤 1—2 分钟,若锥形瓶中溶液不变色,则证明蒸馏器内部已洗净。移去锥形瓶,打开夹子 1,关闭夹子 2,反应室的废液即通过其中的插管流入贮液室,打开夹子 3,放出废液。

3. 蒸馏

(1) 标准样品蒸馏练习 首先必须打开夹子 3(这是本实验关键之一,否则样品会被倒抽到贮液室)。取一个盛有硼酸-混合指示剂的锥形瓶,放于冷凝管的下口,冷凝管下口必须浸没在硼酸液面之下(这是本实验最关键的一步)。取下棒状玻塞 4。用吸量管吸取标准硫酸铵溶液 2 ml,细心地插到小玻璃杯状漏斗颈部下端,让样品溶液流入反应室中,塞上棒状玻塞。加约 1 ml 水。轻轻提起棒状玻塞,用水冲洗漏斗颈部,并流入反应室。用量筒向小玻璃杯状漏斗加入 10 ml 30% NaOH。轻轻地旋转着向上提起棒状玻塞,使碱液慢慢流入反应室,在碱液流剩少许时,将玻塞盖紧。向小玻璃杯漏斗加入约 3 ml 蒸馏水。再轻提玻塞,使一半蒸馏水流入反应室,另一半留在漏斗中作水封。

打开夹子 2,关闭夹子 1 及 3,开始蒸馏。锥形瓶中硼酸-混合指示剂溶液吸收了氨,由紫红色变为绿色,自变色时起记时,蒸馏 3—4 分钟。降低锥形瓶,使硼酸液面离开冷凝管下口约 1 cm,再蒸馏 1 分钟,用少量蒸馏水冲洗冷凝管下口,移开锥形瓶,用表面皿盖好,准备滴定。于冷凝管下方放一只空烧杯。

一次蒸馏结束后,要排出反应室废液。打开夹子 1,关闭夹子 2,反应室的废液即自动流入贮液室。向小玻璃杯状漏斗加入约 10 ml 蒸馏水,轻提棒状玻塞,使蒸馏水流入反应室,立即塞上玻塞。反应室中蒸馏水即自动流入贮液室。如此反复用蒸馏水洗涤反应室 3—4 次。打开夹子 3,放出废液。若用蒸馏水洗涤反应室过程中,贮液室废液较多,亦可先行放出一部分。

重复上述操作一次,共用标准样品练习两次。

(2) 样品和空白消化液的蒸馏 取冷却后的第1号凯氏烧瓶,以消化液代替标准硫酸铵溶液,按标准样品蒸馏练习操作。加样品时,细心地把凯氏瓶中的消化液由小玻璃杯状漏斗加入反应室,用蒸馏水冲洗凯氏烧瓶三次(每次约2 ml),洗涤液皆由小玻璃杯状漏斗加入反应室,并用洗瓶或滴管以少量水冲洗小玻璃杯状漏斗,然后塞上棒状玻塞。其余操作完全按标准样品蒸馏练习进行。因“空白”含氮极少,故硼酸-混合指示剂吸收液无明显的颜色突变。

继续完成第2、3号消化液的蒸馏。然后进行滴定。

三、滴定

由微量滴定管用0.01 mol/L HCl 标准溶液滴定各锥形瓶中收集的氨量,硼酸-混合指示剂溶液由绿色变为淡紫红色为滴定终点。记录标准盐酸溶液的消耗量。

四、计算

$$\text{样品含氮量 mg\%} = \frac{(A-B) \times \text{mol/L} \times 14.008 \times 100}{C}$$

A = 滴定样品用去的 HCl 溶液 ml 数。

B = 滴定空白用去的 HCl 溶液 ml 数。

C = 相当于未稀释样品的 ml 数(或克数)。

mol/L = 盐酸之浓度(以 mol/L 计)。

14.008 = 氮原子量。

计算所得结果为样品总氮量,如欲求得样品中蛋白氮含量,应将总氮量减去非蛋白氮即得。如欲进一步求得样品中蛋白质的含量,则用样品中蛋白氮乘以6.25即得。

附:微量凯氏定氮法——改良式

凯氏蒸馏器的装置和使用

改良式的凯氏蒸馏器结构如图2所示,其特点是将蒸汽发生器、蒸馏器及冷凝器三个部分融为一体。由于蒸汽发生器体积小,

节省能源,本仪器使用方便,效果良好。

操作

消化好的样品液及氢氧化钠溶液均自漏斗A加入,通过B管加至C瓶底部。C瓶外套D为蒸汽发生器,蒸汽发生器产生的蒸汽由小孔K经B管通入C瓶的液体中,将其中的氨带出,经E而进入冷凝管F,冷凝后从出口J进入吸收瓶中。自来水自L通入,经G管进入冷凝器,再通过H进入M。其后分为三路:当开关乙开启时可流入蒸汽发生器D,另一路则通过I向外流出。操作时关闭开关丙,开启开关乙,使水进入D,当液面占据圆球约一半体积时,关闭开关乙(蒸汽发生器D

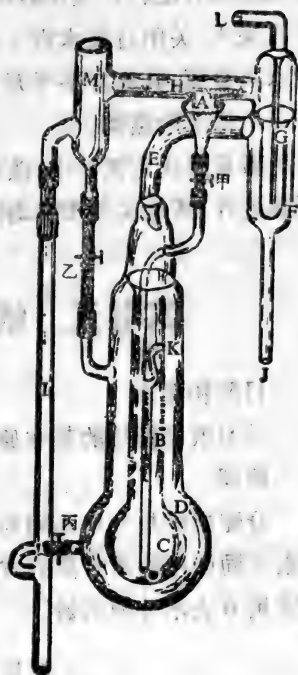


图2 改良式克氏蒸馏仪装置

中不要放入过多的水,否则C瓶内的液体易反冲出来)。开关甲除在加消化液等液体时应常紧闭。蒸馏完毕,停止加热。开启开关乙,使水流入D,当液面距小孔K约3 cm时,关开关乙。开启开关丙,D瓶内的水向外流出,C瓶内的废液也随之由小孔排入D瓶。再用相同操作多次洗涤C、D瓶,即可再进行下一个消化液的蒸馏。

此种蒸馏器其蒸汽从自来水发生,如果自来水含氨较多,可影响测定结果。因此,每次蒸馏后,D瓶应充分洗涤,使蒸汽发生的水不呈碱性,必要时可从M上口加入硫酸少许,使水酸化。每次蒸馏样品前必须先作试验,只有在空白值低而恒定时,才能作样品蒸馏。为了消除自来水中含氨的影响,每次蒸馏后,用自来水先按上

面洗滌的方法將C瓶和D瓶充分洗滌後，倒清C瓶和D瓶內殘存的自來水，關閉自來水進水口，然後打開開關乙，從M處加少量蒸餾水入D瓶，其高度平於開關丙，然後關閉開關乙和丙，即可進行下一個樣品的蒸餾。

微量凱氏定氮法中，改良式凱氏定氮儀的使用，除蒸餾裝置有所改進外，其他實驗步驟均同於前面實驗所述的方法。

實驗五 紙層析法分離氨基酸

目的和要求

學習紙層析法的基本原理和操作方法。

原理

分配層析是利用不同的物質在兩種互不混溶的溶劑中的分配係數不同而使物質分離的方法。相當於一種連續性的溶劑抽提法。通常用 α 表示分配係數。

$$\alpha = \frac{\text{溶質在固定相的濃度}(C_s)}{\text{溶質在流動相的濃度}(C_L)}$$

一種物質在某溶劑系統中的分配係數，在一定的溫度下是一個常數。

如用帶水的材料(載體)作為固定相，加入與水不相混合或僅部分混合的溶劑(流動相)流經載體，則混合物各組分在兩相間發生不同的分配現象而逐漸分離，形成色層。

載體在分配層析中只起負擔固定相的作用，它們是一些吸附力小，反應性弱的情性物質，如澱粉、纖維素粉、濾紙等。紙層析是以濾紙為載體的一種分配層析。

濾紙纖維上的OH基對水的親和力強，能吸附一層水作為固定相(約含水20—22%)。某些有機溶劑如醇、酚等與濾紙纖維的

亲和力弱,是常用的流动相,展层时它沿着滤纸移动。溶剂由下向上移动的,称上行法;由上向下移动的,称下行法。

把欲分离的物质(样品)点在滤纸的一端(此点称为原点),使流动相经此点移动,样品中的各种溶质(如各种氨基酸)即在两相溶剂中不断进行分配。由于它们的分配系数不同,各种溶质随流动相移动的速率不等,在固定相中分配趋势较大的溶质随流动相移动的速度慢,反之,在流动相分配趋势较大的溶质移动速度快。于是在流动相移动一定距离后,溶质的各种成分彼此分离,在纸上集中于不同的部位,形成离原点距离不等的层析点。

溶质在滤纸上的移动速率用 R_f 值表示

$$R_f = \frac{\text{原点到层析点中心的距离}}{\text{原点到溶剂前沿的距离}}$$

在温度一定,滤纸质量一定的条件下,物质在一定的溶剂系统中的分配系数是一定的,所以移动速率(R_f 值)也恒定,因此可根据 R_f 值作定性分析。

纸层析法按操作方法分成两类,即垂直型和水平型。垂直型是将滤纸悬起,使流动相向上或下扩散。水平型是将圆形滤纸置于水平位,溶剂由中心向四周扩散。

垂直型使用较广。按分离物质的多寡,将滤纸裁成长条或长方形在某一端离边缘 2 cm 处点样,待干后,将点样端边缘与溶剂接触,在密闭的玻璃缸内进行展层。上述方法只用一种溶剂系统进行一次展层,称为单向层析。如果样品成分较多,而且在一种溶剂系统中各组分彼此的 R_f 值相近,单向层析分离效果不佳,此时应采取双向层析法。双向层析是在长方形或方形滤纸的一角点样,先用第一种溶剂系统展层,展层完毕吹干后,将滤纸转 90° ,以第一次展层所得的层析点为原点,再用另一种溶剂系统展层,从而各成分分离较为清晰,见图 3。

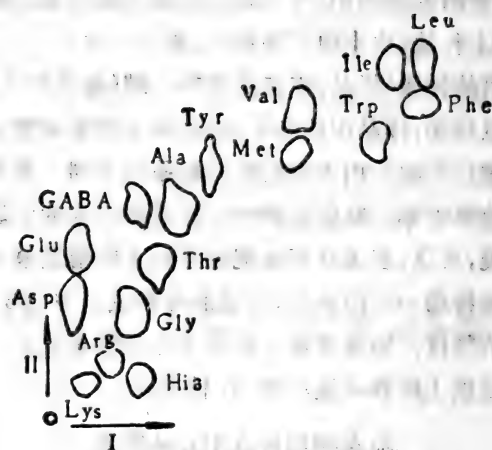


图 3 氨基酸双向室温纸层析图谱

第 1 向(正丁醇:12% NH_4OH :95%乙醇=13:3:3)

第 2 向(正丁醇:80%甲酸: H_2O =15:3:2)

氨基酸无色,利用茚三酮反应,可将氨基酸层析点显色作定性、定量分析。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器和器材

1. 层析缸^①(3 个)。
2. 新华 1 号滤纸。
3. 电热鼓风干燥箱。
4. 吹风机。
5. 分液漏斗(100 ml 2 个)。
6. 培养皿(Φ 12.5 cm 2 个)。
7. 烧杯(10 ml 2 个)。
8. 微量注射器或毛细管。

^① 本实验所用层析缸是用大的标本缸代替的。若用标准的层析缸,滤纸平衡后应用长颈漏斗从层析缸上部小孔中加入展层溶剂。

9. 橡皮手套。

10. 针、白线、尺、铅笔。

二、试剂和材料

1. 6种氨基酸溶液(1 mg/ml)。6种氨基酸是：甘氨酸、赖氨酸、谷氨酸、酪氨酸、缬氨酸、亮氨酸。

2. 氨基酸混合液(每种氨基酸各 500 $\mu\text{g/ml}$)。

3. 正丁醇 A.R.)。

4. 12%氨水。

5. 95%乙醇。

6. 80%甲酸。

7. 显色贮备液：0.4 mol/L 茚三酮-异丙醇：甲酸：水=20:1:5(V/V)。

操作

一、氨基酸单向上行纸层析

1. 滤纸准备,选用新华1号滤纸二张,裁成 $24 \times 28 \text{ cm}$ 长方形,在距纸一端 2 cm 处划一基线,在线上每隔 2—3 cm,画一小点

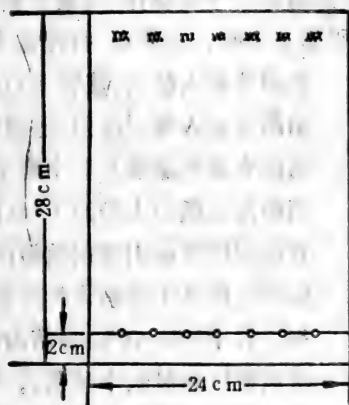


图 4 单向层析

作点样的原点,在另一端对应的位置写上氨基酸名称,见图 4。

2. 点样:氨基酸点样量以每种氨基酸含 5—20 μg 为宜,用微量注射器或毛细管吸取氨基酸样品液约 10 μl 点于原点(分几次点完),点子直径不能超过 0.5 cm,边点样边用电吹风机吹干。本实验做两张单向层析谱,每张 6 种氨基酸及一点混合氨基酸。将点样完毕的滤纸卷成圆筒形,用线缝好。注意勿使滤纸两边接触。此时纸筒高度为 28 cm。

3. 展层和显色

展层条件:(1) 酸溶剂系统,正丁醇:80%甲酸: H_2O = 15:3:2 (V/V),平衡溶剂与展层溶剂相同。温度 25°C。时间 6—7 小时。(2) 碱溶剂系统,正丁醇:12%氨水:95%乙醇 = 13:3:3 (V/V)。平衡溶剂为 12%氨水。温度 25°C,时间 7—8 小时。临用时向二种展层剂添加显色贮备液(0.1—0.5 ml/10 ml),摇匀使用。

注意,使用的溶剂系统需新鲜配制,并在分液漏斗中摇匀。平衡溶剂每烧杯放 5 ml 左右,展层溶剂每张滤纸约需 25 ml。

展层和显色:将滤纸筒立于培养皿内(注意滤纸不要碰皿壁),原点在下端。培养皿旁边放一个小烧杯,内盛平衡用的溶剂(见图 5)。盖好层析缸盖,平衡 2 小时。平衡后,打开盖上的塞子,用长

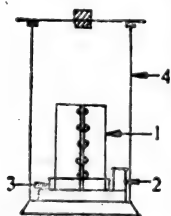


图 5 纸层析装置
1. 层析纸 2. 平衡
溶液 3. 培养皿
4. 层析缸

颈漏斗插入缸内,使管下口接触培养皿底,由漏斗加入展层溶剂,迅速取出漏斗(注意勿使它碰到滤纸),盖上塞子。当溶剂展层至距离滤纸的上沿约 1 cm 时,取出滤纸。立即用铅笔标出溶剂前沿位置,挂在绳上晾干,使纸上溶剂自然挥发,直至除净溶剂。置于 65—70°C 烘箱内温热显色(或用吹风机以热风吹干显色)。用铅笔描出蓝紫色斑点的轮廓,点出斑点中心。

4. R_f 值的测定

量出原点到溶剂前沿的距离及原点至斑点中心的距离,即可按公式计算出各种氨基酸在两种溶剂系统中的 R_f 值。根据 R_f 值可确定混合氨基酸经纸层析分离后所得的斑点分别是什么氨基酸。

二、混合氨基酸双向上行纸层析

1. 滤纸准备:将滤纸裁成 28×28 cm 正方形,距滤纸相邻两边分别为 3 cm 和 2 cm 处用铅笔轻轻划两条线,在线的交点上点样(见图 6)。

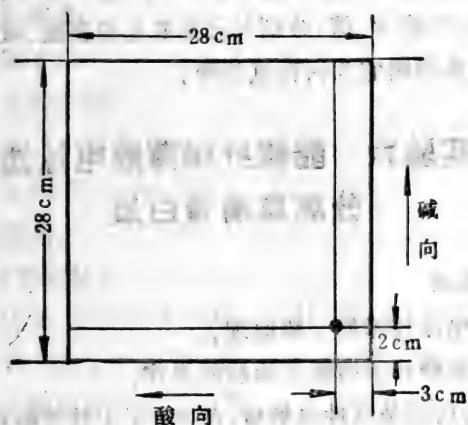


图 6 双向层析

2. 点样:取混合氨基酸溶液 $10-15 \mu\text{l}$,分几次点于原点,点的直径不能超过 0.5 cm。

3. 展层和显色:将点好样的滤纸卷成圆筒形,用线缝好,竖立在培养皿中(图 5),原点应在下端距纸边 2 cm 处。置少量 12% 氨水于小烧杯中,盖好层析缸,平衡 2 小时。平衡后,用长颈漏斗加入约 25 ml 不含显色贮备液的碱向(第一向)溶剂于培养皿中,盖好塞子,上行展层,当溶剂前沿距滤纸上端 1-2 cm 时,取出滤纸,冷风吹干。记录原点到溶剂前沿的距离。将第一向上端约 2 cm

滤纸裁去,以除去溶剂边缘。将滤纸转 90° ,再卷成圆筒状,竖立于干净培养皿中,与纸边相距 3 cm 的线应在下端。置于做酸向层析的层析缸内,并于小烧杯中置少量酸向溶剂,盖好层析缸,平衡 2 小时。平衡后,将加有显色贮备液的酸向溶剂约 25 ml 由长颈漏斗加入培养皿、进行第二向展层。展层毕,取出滤纸,用热风吹干,蓝紫色斑点即显现。记录原点(在与纸边相距 3 cm 的线上)到溶剂前沿的距离。用铅笔描出蓝紫色斑点的轮廓,点出斑点中心。

4. 定性鉴定:分别计量出每个斑点在第一向(碱系统)和在第二向(酸系统)中的 R_f 值,分别与已知氨基酸在酸、碱系统的 R_f 值对比,即可初步判断它为何种氨基酸。

实验六 醋酸纤维薄膜电泳法 分离血清蛋白质

目的和要求

1. 了解电泳技术的一般原理。
2. 学习醋酸纤维薄膜电泳法的操作。

原理 蛋白质是两性电解质。在 pH 小于其等电点的溶液中,蛋白质为正离子,在电场中向阴极移动;在 pH 大于其等电点的溶液中,蛋白质为负离子,在电场中向阳极移动。血清中含有数种蛋白质,它们所具有的可解离基不同,在同一 pH 的溶液中,所带净电荷不同,因此在电场中移动速度不同,故可利用电泳法将它们分离。

醋酸纤维(二乙酸纤维素)薄膜具有均一的泡沫状结构(厚约 120 μm),渗透性强,对分子移动无阻力,用它作区带电泳的支持物,具有用样量少,分离清晰,无吸附作用,应用范围广和快速简便等优点。目前已广泛用于血清蛋白、脂蛋白、血红蛋白、糖蛋白、酶的分​​离和免疫电泳等方面。

醋酸纤维薄膜经二氧六圆(dioxane)、透明液或液体石蜡处理即透明,因而可得到背景为无色的电泳图谱,有利于用光密度计测定。也可将斑点洗脱,用比色法测定。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器和器材

1. 直流稳压电泳仪及电泳槽。
2. 点样器或载玻片(截面为 $1.2\text{ cm} \times 0.15\text{ cm}$)。
3. 吹风机。
4. L形玻棒。
5. 竹镊子。
6. 直尺和铅笔。
7. 单面刀片和剪刀。
8. 培养皿($\Phi 10\text{ cm}$ 3个)。

二、试剂和材料

1. 巴比妥-巴比妥钠缓冲液(pH 8.6, 0.075 mol/L): 称取巴比妥钠(A.R.) 15.4 g 和巴比妥(A.R.) 2.76 g , 溶于蒸馏水, 稀释至 1000 ml , 用酸度计校测后使用。
2. 染色液: 氨基黑10B 0.5 g 、甲醇(A.R.) 50 ml 、冰乙酸(A.R.) 10 ml , 加蒸馏水 40 ml , 混匀即可。(可反复使用)
3. 漂洗液: 乙醇(A.R.) 45 ml 、冰乙酸(A.R.) 5 ml , 加蒸馏水 50 ml , 混匀即可。
4. 醋酸纤维薄膜($12 \times 8\text{ cm}$, $2 \times 8\text{ cm}$)、厚度 $120\text{ }\mu\text{m}$ 、(浙江黄岩化学试验厂)。
5. 人血清或兔血清(新鲜、无溶血现象)。
6. 定量滤纸和粗滤纸。

操作

一、仪器和薄膜的准备

1. 平衡:用平衡装置或自制的平衡管,使两个电极槽内缓冲液的液面彼此处于水平的状态。一般需平衡 15—20 分钟。注意,平衡后应将平衡装置的活塞关好或除去平衡管。

2. 浸泡:将醋酸纤维素薄膜切成 $8 \times 2(\text{cm})$ 条状。在薄膜无光泽面的角上用铅笔做上记号。将薄膜无光泽面向下,漂浮于盛在培养皿中的巴比妥缓冲液面上,使膜条自然浸湿。若迅速润湿,整条薄膜色泽深浅一致,则表明薄膜质地均匀;若润湿时,薄膜上出现深浅不一的条纹或斑点等,则为厚薄不匀的薄膜。实验中应选用质地均匀的薄膜。将选用的薄膜用镊子或玻棒轻压,使它全部浸入缓冲液内,待膜完全浸透(约半小时)后,用镊子轻轻取出,将薄膜无光泽面向上,平放在干净滤纸上,薄膜上再放一张干净滤纸,轻轻吸去多余的缓冲液。

3. 制作“滤纸桥”:取定量滤纸,剪裁成 $2.5-3 \text{ cm}$ 宽的滤纸条。以双层附着在电泳槽的支架上,使它的一端与支架的前沿对齐,而另一端浸入电极槽的缓冲液内。然后用缓冲液将滤纸全部润湿,驱除气泡,使滤纸紧贴在支架上,即为“滤纸桥”。按照同样的方法,在另一个电极槽的支架上制作相同的“滤纸桥”。它们的作用是联系醋酸纤维薄膜和两极缓冲溶液的中间“桥梁”。

二、点样

将经浸泡过的薄膜无光泽面向上平铺在洁净玻璃板上。用玻棒蘸取少量血清均匀地涂在载玻片的一端截面上(玻片宽度应小于薄膜),然后水平地与距纤维薄膜一端 1.5 cm 处轻轻接触,样品即呈一条状涂于纤维膜上(见图 7)。待血清透入膜内,移去载玻片。①

三、电泳

将已点样的薄膜使无光泽面向下,膜条两端紧贴在电泳支架

① 点样好坏是电泳图谱是否清晰的关键,可让学生先在滤纸上练习。

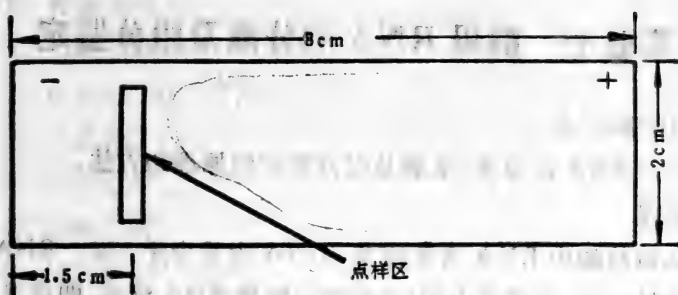


图 7 醋酸纤维薄膜规格及点样位置

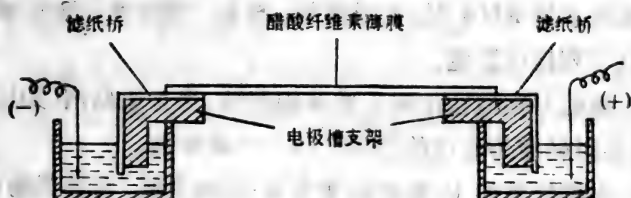


图 8 醋酸纤维薄膜电泳装置示意图

的“滤纸桥”上，点样端为负极，形成水平悬空状态(见图 8)。盖严电泳室，平衡 5 分钟。仔细检查电泳装置的线路是否正确，然后通电。调节电压至 160 V，电流强度 0.4—0.7 mA/cm 膜宽。电泳时间约为 30 分钟。

四、染色

电泳完毕，将薄膜浸于染色液中 5—10 分钟，取出，用漂洗液漂洗至背景无色(约 4—5 次)，再用蒸馏水漂洗一次。将膜条夹在干净的滤纸中压平吸干。

五、结果判断

一般在染色后的薄膜上可显现清楚的五条区带，从正极端起，依次为清蛋白、 α_1 -球蛋白、 α_2 -球蛋白、 β -球蛋白和 γ -球蛋白。

实验七 酵母 RNA 的分离及组分鉴定

目的和要求

学习 RNA 的分离、水解及组分鉴定的原理和方法。

原理

酵母核酸中 RNA 含量较多, DNA 含量少于 2%。RNA 可溶于碱性溶液, 当碱被中和后, 可加乙醇使 RNA 沉淀, 即得 RNA 粗制品。

用碱液提取的 RNA 已有不同程度的降解。

用硫酸水解 RNA 时, 生成磷酸、核糖、嘌呤碱和嘧啶碱。各种成分以下列反应鉴定。

(1) 磷酸与钼酸铵作用生成磷钼酸铵, 当有还原剂(如抗坏血酸等)存在时转变为蓝色的还原产物——磷钼蓝。

(2) 在酸性条件下, 核糖转变为 α -呋喃甲醛, 与苔黑酚(3,5-二羟甲苯, 又称地衣酚)作用生成鲜绿色复合物。

(3) 嘌呤碱与硝酸银能产生白色絮状嘌呤银化物沉淀, 而且颜色逐渐变为褐色。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 电热恒温水浴。
2. 离心机、离心管和离心杯。
3. 烧杯(100ml 1个、10ml 1个)。
4. 试管及试管架。
5. 石棉网、铁三脚架和酒精灯。
6. 漏斗。
7. 玻棒。
8. 量筒(10ml 1个、50ml 1个)。

9. 托盘天平。

二、试剂和材料

1. 0.2%NaOH 溶液。

2. 冰乙酸。

3. 95%乙醇。

4. 无水乙醇。

5. 10% H_2SO_4 溶液。

6. 15%氨水。

7. 2% $AgNO_3$ 溶液。

8. 苔黑酚- $FeCl_3$ 试剂:100mg $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 溶于 100ml 浓盐酸中。贮存备用。使用前加入 476mg 苔黑酚。

9. 定磷试剂:3mol/L H_2SO_4 :2.5% 钼酸铵溶液:10% 抗坏血酸溶液:水=1:1:1:2(V/V)临用时按比例混合。定磷试剂应为浅黄绿色。

抗坏血酸溶液应贮存于棕色瓶中,置冰箱中可保存一个月。溶液呈淡黄色时尚可用,如呈深黄色甚至棕色即失效。

10. 干酵母。

11. 滤纸。

12. 蓝色石蕊试纸。

操作

一、RNA 的提取

置 4g 干酵母粉于 100ml 烧杯中,加入 0.2%NaOH 溶液 40 ml,置沸水浴中加热 30 分钟,经常搅拌。冷却至室温后,将浊液移至离心杯,离心 15 分钟(4000 r/min)。上清液倾入另一个离心杯,加入冰乙酸数滴使提取液呈酸性(石蕊试纸变红),缓缓加入 95%乙醇 30ml,边加边搅拌。待 RNA 沉淀完全后,离心 3 分钟(3000r/min),舍弃上清液。用 95%乙醇洗涤沉淀两次(每次约 10ml),离心分离(2000r/min,5—6 分钟)。用乙醚将沉淀移至玻

璃漏斗中的滤纸上,用乙醚洗涤沉淀二次(每次约 10ml),洗涤时可用玻棒小心搅动沉淀。乙醚滤干后,滤渣即为 RNA 粗制品。

二、RNA 的水解及组分鉴定

1. RNA 的水解:取上法制备的 RNA 约 0.2g,置于 10ml 小烧杯中,加 10% H_2SO_4 溶液 5ml,置石棉网上用酒精灯小火加热,煮沸 2 分钟,得 RNA 水解液(水解未完全),过滤,取滤液作组分鉴定。

2. 嘌呤碱的鉴定:取一支试管加入水解液 1 ml,加入 15% 氨水 1ml,2% AgNO_3 溶液 1ml,摇匀,放置片刻,有白色絮状嘌呤银化物产生,见光或加热,沉淀颜色变深。

3. 核糖的鉴定:取一支试管加入水解液约 0.5ml,加苔黑酚- FeCl_3 试剂 1ml,置沸水浴中加热,观察颜色变化。

4. 磷酸的鉴定:取一支试管加入水解液约 0.5ml,加定磷试剂 1ml,置沸水浴中加热,溶液颜色变蓝说明磷酸的存在。

实验八 酶 的 特 性

目的和要求

加深对酶的性质的认识。包括酶的专一性和温度、pH、激活剂、抑制剂对酶促反应的影响。

I. 酶的专一性

原理

酶的专一性是指一种酶只能对一种或一类化合物(在这些化合物的结构中具有相同的化学键)起一定的催化作用。酶具有高度的专一性,这是它与一般催化剂的主要区别之一。

唾液淀粉酶催化淀粉水解生成具有还原性的麦芽糖,但不能催化蔗糖水解。蔗糖酶催化蔗糖水解生成还原性的葡萄糖和果糖,但不能催化淀粉水解。由于淀粉和蔗糖无还原性,用 Benedict

试剂检查是否有还原性产物生成,即可说明酶 是否对特定的化合物起作用。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 恒温水浴。
2. 沸水浴。
3. 试管及试管架。
4. 烧杯(50ml 1 个、500ml 1 个)。
5. 量筒(100ml 1 个、1ml 4 个)。
6. 试管夹。

二、试剂和材料

1. 1%淀粉-NaCl溶液,1g淀粉溶于100ml 0.3% NaCl 溶液中,煮沸 2—3 分钟。新鲜配备或配制后置冰箱保存。

2. 2%蔗糖(A.R.)溶液。

3. 蔗糖酶溶液:取新鲜啤酒酵母 50 g,用水洗涤 2—3 次(离心法),把酵母置研钵内,添加少量石英砂及适量蒸馏水,用力研磨提取约 1 小时,再加蒸馏水使总体积约为 250ml,搅拌,离心(3000r/min,10 分钟),上清液置冰箱中保存备用。

4. Benedict 氏试剂(定性试剂):将无水硫酸铜 1.74g 溶于 100ml 热蒸馏水中,冷却后稀释至 150ml。取柠檬酸钠 173g 及无水碳酸钠 100g,加水 600ml,加热使之溶解,冷却后稀释至 850 ml。把硫酸铜溶液缓缓倾入柠檬酸钠-碳酸钠溶液中,混匀。本试剂可保存很久。

操作

一、唾液的收集与稀释,用蘸有少许醋酸的滤纸条置于口腔内,勿接触口腔壁,唾液即大量分泌,用小烧杯接取约 1ml。稀释 200 倍待用。

二、取 7 支试管,编号。按下表操作,

	检查还原性杂质			唾液酶专一性		蔗糖酶专一性	
管 号	1	2	3	4	5	6	7
1%淀粉-NaCl溶液(ml)	1	—	—	1	—	1	—
2%蔗糖溶液(ml)	—	1	—	—	1	—	1
唾液淀粉酶溶液 (ml)	—	—	—	0.5	0.5	—	—
蔗糖酶溶液 (ml)	—	—	0.5	—	—	0.5	0.5

37°C恒温水浴保温15分钟

Benedict氏试剂 (ml)	1	1	1	1	1	1	1
------------------	---	---	---	---	---	---	---

沸水浴加热2—3分钟

有否桔红色沉淀产生							
-----------	--	--	--	--	--	--	--

注：蔗糖酶溶液含有少量还原性杂质，故呈弱阳性反应。

对实验结果进行分析。

II. 温度对酶活力的影响

原理

温度对酶催化的化学反应过程具有双重效应。一方面与一般化学反应一样，提高温度可以加快酶促反应的速度。通常每升高10°C，反应速度加快一倍左右。另一方面，因为酶是蛋白质，温度过高会引起蛋白质变性，使酶失去活性(失活)。因此，当温度很低时，酶促反应速度很慢，随着温度升高，反应速度加快；当上升至某一温度时，酶促反应速度达到最大值，此时的温度称为某种酶作用的最适温度；温度继续上升，反应速度迅速下降。大多数动物酶的最适温度为37—40°C，植物酶的最适温度为50—60°C，低温能降低或抑制酶的活性，但不能使酶失去活性，当温度逐渐升高时，催化能力又恢复。

通常测定酶的活力时，在酶促反应的最适温度下进行。

淀粉遇碘呈蓝色。淀粉水解过程中产生的糊精遇碘时，按其分子的大小可呈蓝色、紫色、暗褐色或红色。小分子的糊精和麦芽糖遇碘都不呈色。淀粉被淀粉酶水解的程度可由水解混合物遇碘

呈现的颜色来判断。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 试管及试管架。

2. 恒温水浴。

3. 冰水浴。

4. 酒精灯。

5. 量筒(5ml 2个)。

6. 试管夹。

二、试剂和材料

1. 0.2%淀粉-0.3%NaCl溶液: 0.2g淀粉溶于100ml 0.3%NaCl溶液中, 煮沸2—3分钟。新鲜配备或配制后置冰箱保存。

2. 稀释200倍的新鲜唾液(见本实验第I部分)。

3. I_2 -KI溶液: 取1g I_2 溶于100ml 2%KI溶液中, 贮存于棕色瓶中备用。

操作

编 号 步 骤	1	2	3	4
1	0.2%淀粉-0.3%NaCl溶液		0.2%淀粉-0.3 NaCl 溶液	
	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
2	置冰水浴中 5 分钟		置37°C恒温水浴中 5 分钟	
3	预冷的 $\frac{1}{200}$ 唾液		$\frac{1}{200}$ 唾液 0.5ml	煮沸过的 $\frac{1}{200}$ 唾液 0.5ml
	0.5ml	0.5ml		
4	置冰水浴中10分钟		置37°C恒温水浴中10分钟	
5	I_2 -KI 2滴	移至37°C恒水浴中10分钟	I_2 -KI 2滴	I_2 -KI 2滴
6	—	I_2 -KI 2滴	—	—
颜色				

取四支试管,编号,按上表操作。

比较不同温度处理的酶活力。

III. pH 对酶活力的影响

原理

环境的 pH 对酶的活性有显著影响, pH 既影响酶蛋白也影响底物的离解程度,从而影响酶与底物的结合及催化作用。通常只有一定的 pH 范围内酶才表现它的活性,一种酶表现出最高活性时,该溶液的 pH 称为此种酶的最适 pH。高于或低于最适 pH 时,酶的活性显著降低。不同酶的最适 pH 值不同,但与该酶在机体内存在部位的 pH 有一致关系。例如胃蛋白酶的最适 pH 为 1.5—2.5、胰蛋白酶的最适 pH 为 8—9、唾液淀粉酶的最适 pH 约为 6.8。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 试管及试管架。
2. 吸量管(10 ml 1 支、5 ml 6 支、1 ml 3 支)。
3. 锥形瓶(50 ml 5 个)。
4. 白瓷板。
5. 滴管。
6. 恒温水浴。

二、试剂和材料

1. 0.2mol/L 磷酸氢二钠溶液。
2. 0.1mol/L 柠檬酸溶液。
3. 0.5%淀粉-0.3%NaCl 溶液:0.5g淀粉溶于 100 ml 0.3% NaCl 溶液中,煮沸 2—3 分钟。新鲜配备或配制后置冰箱保存。
4. I_2 -KI 溶液(见本实验第 II 部分)。
5. 稀释 200 倍的新鲜唾液(见本实验第 I 部分)。

操作

取 5 个 50 ml 锥形瓶,编号。按下表的比例,用吸量管加入

0.2mol/L 磷酸氢二钠溶液和 0.1 mol/L 柠檬酸溶液, 制备 pH 5.6—8.0 的 5 种缓冲溶液。

锥形瓶号码	0.2 mol/L Na_2HPO_4 (ml)	0.1 mol/L 柠檬酸 (ml)	缓冲液 pH
1	5.80	4.20	5.6
2	6.61	3.39	6.2
3	7.72	2.28	6.8
4	9.08	0.92	7.4
5	9.72	0.28	8.0

取 6 支干燥试管, 编号。从 5 个锥形瓶中各吸取 3 ml 缓冲液, 分别加入相应号码(1—5)的试管中。第 6 号试管加入的缓冲液的 pH 与第 3 号试管的相同。然后再向每个试管添加 0.5% 淀粉—0.3% NaCl 溶液 1 ml。

向第 6 号试管加入稀释 200 倍的唾液 1 ml, 摇匀, 置 37°C 恒温水浴中保温, 3 分钟后, 每隔 1 分钟从其中取出一滴混合液, 置于白瓷板上, 加一滴 I_2 —KI 溶液, 检验淀粉的水解程度。待反应呈橙黄色时, 记录保温时间, 并取出试管。注意, 掌握第 6 号试管的水解程度是本实验成败的关键之一。

以 1 分钟的间隔, 依次向第 1 至 5 号试管加入稀释 200 倍的唾液 1 ml, 摇匀, 并放入 37°C 恒温水浴中保温。然后, 按照第 6 号试管的保温时间, 依次将各管迅速取出, 并立即加入 I_2 —KI 溶液 2 滴, 充分摇匀, 观察各管呈现的颜色, 判断在不同 pH 条件下, 淀粉被水解的程度, 可以看出 pH 对唾液淀粉酶活性的影响, 并确定其最适 pH。

IV. 激活剂和抑制剂对酶活力的影响

原理

酶的活性常受某些物质的影响, 有些物质能提高酶的活性, 称

为酶的激活剂;有些物质能使酶的活性降低,称为酶的抑制剂。例如, Cl^- 为唾液淀粉酶的激活剂, Cu^{2+} 为其抑制剂。但是激活剂和抑制剂不是绝对的,有些物质在低浓度时为某种酶的激活剂,而在高浓度时则为该酶的抑制剂。例如,氯化钠达到 $1/3$ 饱和度时就可抑制唾液淀粉酶的活性。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 恒温水浴。
2. 试管及试管架。

二、试剂和材料

1. 0.1% 淀粉溶液。
2. 1% NaCl 溶液。
3. 1% CuSO_4 溶液。
4. $\text{I}_2\text{-KI}$ 溶液(见本实验第 II 部分)。
5. 稀释 200 倍的新鲜唾液(见本实验第 I 部分)。

操作

取三支试管,按下表加入试剂(ml)

管号	试剂	0.1% 淀粉	1% NaCl	1% CuSO_4	H_2O	$\frac{1}{200}$ 唾液		$\text{I}_2\text{-KI}$	颜色
1		1	0.5	—	—	0.5	恒温水浴 保温10分 钟	2 滴	
2		1	—	0.5		0.5		2 滴	
3		1	—	—	0.5	0.5		2 滴	

比较三支试管的颜色、并解释之。

若激活剂或抑制剂的作用不明显,可适当调节反应时间或唾液稀释倍数,再进行实验。

实验九 维生素 C 的定量测定

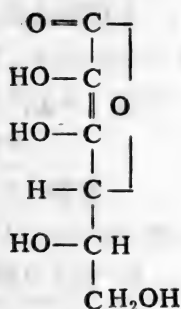
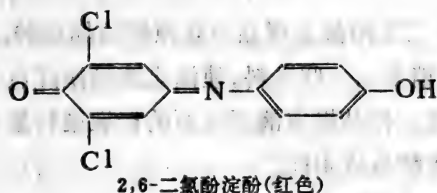
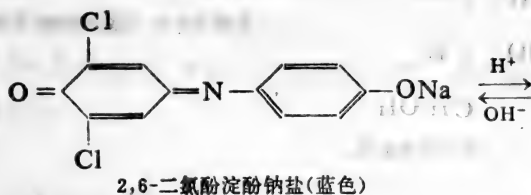
(2,6-二氯酚靛酚滴定法)

目的和要求

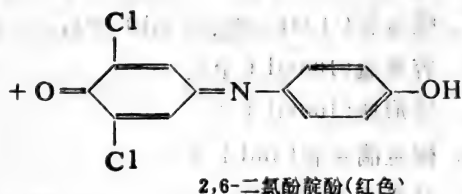
学习定量测定维生素C的原理和方法。

原理

还原型抗坏血酸能还原染料 2,6-二氯酚靛酚，本身则氧化成脱氢抗坏血酸。在酸性溶液中，2,6-二氯酚靛酚呈红色，被还原后变为无色^①。



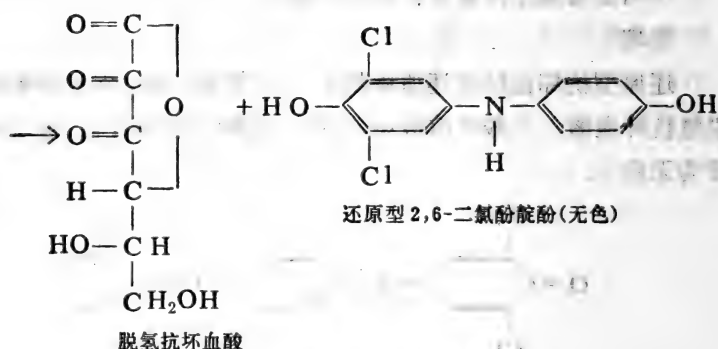
还原型抗坏血酸



① 应用本法测定抗坏血酸简便易行，但存在下列缺点，

1) 抗坏血酸还能以脱氢抗坏血酸及结合抗坏血酸形式存在，它们同样具有抗坏血酸的生理功用，但不能将二氯酚靛酚还原脱色。

2) 生物组织提取液中，常有色素存在，影响滴定，虽可用白陶土将提取液脱色，但最适用的白陶土不易得到，往往不能将颜色脱尽。



因此,可用 2,6-二氯酚滴定样品中还原型抗坏血酸。当抗坏血酸全部被氧化后,稍多加一些染料,使滴定液呈淡红色,即为终点。如无其他杂质干扰,样品提取液所还原的标准染料量与样品中所含的还原型抗坏血酸量成正比。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 吸量管(1 ml 1 支、10 ml 1 支)。
2. 容量瓶(100ml 1 个)。
3. 锥形瓶(100ml 3 个)。
4. 微量滴定管(5ml 1 支)。
5. 托盘天平(100g)。
6. 研钵。
7. 漏斗(Φ 8 cm 2 个)。

二、试剂和材料

1. 1% HCl 溶液。
2. 2% 草酸溶液。
3. 1% 草酸溶液。
4. 标准抗坏血酸溶液,准确称取 50.0 mg 纯抗坏血酸,溶于

1%草酸溶液,并稀释至 500 ml。贮棕色瓶,冷藏,最好临用时配制。

5. 0.1%2,6-二氯酚靛酚溶液①: 溶 50 mg 2,6-二氯酚靛酚于 200 ml 含有 52 mg NaHCO_3 的热水中,冷却后加水稀释至 250 ml,滤去不溶物,贮棕色瓶内,冷藏(4℃约可保存一星期)。每次临用时,以标准抗坏血酸溶液标定。

6. 松针、新鲜蔬菜(辣椒、青菜、西红柿等)、新鲜水果(桔子、苹果、大枣等)。

操作

1. 不同样品用不同方法提取

(1) 松针: 水洗净,用滤纸吸去表面水分。称取 0.5g,放入研钵中,加 1% HCl 溶液 5 ml 一起研磨。放置片刻,将提取液转入 50 ml 容量瓶中。如此反复 2—3 次。最后用 1% HCl 溶液稀释到刻度并混匀,静置 10 分钟,过滤,滤液备用。

(2) 新鲜蔬菜和水果类: 水洗净,用纱布或吸水纸吸干表面水分。然后称取 20.0 g,加 2%草酸② 100ml 置组织搅碎机中打成浆状。称取浆状物 5.0 g,倒入 50 ml 容量瓶中以 2%草酸溶液稀释至刻度③。静置 10 分钟,过滤④(最初数 ml 滤液弃去)。滤液备用⑤。

2. 滴定

(1) 标准液滴定,准确吸取标准抗坏血酸溶液 1.0 ml(含 0.1 mg 抗坏血酸)置 100 ml 锥形瓶中,加 9 ml 1%草酸,由微量滴定

① 市售 2,6-二氯酚靛酚质量不一,如杂质过多,应适当提高浓度,但也不宜过浓,以滴定标准抗坏血酸溶液时,染料用量在 2 ml 左右为宜。

② 2%草酸可抑制抗坏血酸氧化酶,1%草酸因浓度太低不能完成上述作用。偏磷酸有同样功效。若样品中含有大量 Fe^{2+} 可用 8%醋酸溶液提取,如仍用偏磷酸或草酸为提取剂, Fe^{2+} 可以还原二氯酚靛酚,如用醋酸则 Fe^{2+} 不会很快与染料起作用。

③ 如浆状物泡沫很多,可加数滴辛醇或丁醇。

④ 若浆状物不易过滤,可离心取上清液测定。

⑤ 如滤液颜色太深,滴定时不易辨别终点,可先用白陶土脱色。

管以 0.1% 2,6-二氯酚靛酚滴定至淡红色, 并保持 15 秒钟即为终点^①。由所用染料的体积计算出 1 ml 染料相当于多少 mg 抗坏血酸。

(2) 样液滴定: 准确吸取滤液两份, 每份 10.0 ml 分别放入二个 100ml 锥形瓶内, 滴定方法同前。

注意: 滴定过程宜迅速, 一般不超过 2 分钟。滴定所用的染料不应少于 1 ml 或多于 4 ml, 如果样品含抗坏血酸太高或太低时, 可酌量增减样液。

计算

$$\frac{V \times T}{W} \times 100 = 100g \text{ 样品中含抗坏血酸 mg 数。}$$

V = 滴定时所用去染料 ml 数。

T = 1ml 染料能氧化抗坏血酸 mg 数。

W = 10ml 样液相当于样品之 g 数。

实验十 底物浓度对酶活性的影响

(K_m 值测定)

目的和要求

1. 了解米氏常数的意义。
2. 学习测定米氏常数的原理和方法。

原理 由 $V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$ 中, 整理得 $\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$ (双倒数法)

在环境的温度、pH 和酶浓度等恒定的条件下, 当底物浓度在较低范围内增加时, 酶促反应的初速度随着底物浓度的增加而加速。当底物增至一定浓度后, 即使再增加其浓度, 反应速度也不会再增大, 即已达到最大反应速度。这是由于酶浓度限制了所形成

^① 样品中某些杂质亦能还原三氯酚靛酚, 但速度均较抗坏血酸慢, 故终点以淡红色存在 15 秒钟为准。

的中间络合物浓度的缘故。

Michaelis 和 Menten 从酶与底物先结合形成中间产物, 然后再分解为产物这个假定出发, 根据 $E + S$ 与 ES 之间的平衡迅速达到的前提, 用数学推导得出底物浓度和酶促反应速度的关系式为:

$$v = \frac{V[S]}{K_m + [S]}$$

此式称为米氏方程, 式中: v 为反应初速度; V 为最大反应速度; $[S]$ 为底物浓度; K_m 为米氏常数。

$$\text{当 } v = \frac{V}{2} \text{ 时, } K_m = [S]$$

K_m 是反应速度等于最大速度的一半时的底物浓度。 K_m 是酶的基本特征性常数。对于一个酶促反应, 在一定条件下, 都有它特定的 K_m 值, 故常用于鉴别酶。

Lineweaver-Burk 作图法是用实验方法测定 K_m 值的最常用的比较方便的方法, 又称为双倒数作图法。

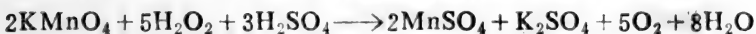
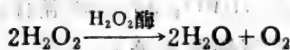
取米氏方程的倒数式

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + [S]}{V[S]} = \frac{K_m}{V[S]} + \frac{[S]}{V[S]}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V} \left(\frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{V}$$

以 $\frac{1}{v}$ 对 $\frac{1}{[S]}$ 作图可得一直线, 其斜率为 $\frac{K_m}{V}$, 截距为 $\frac{1}{V}$ 。若将直线延长与横轴相交, 则该交点在数值上等于 $-\frac{1}{K_m}$ 。

本实验以红细胞的过氧化氢酶为材料, 采用 Lineweaver-Burk 双倒数作图法测定 K_m 值。



H_2O_2 被 H_2O_2 酶分解为 H_2O 和 O_2 , 剩余的 H_2O_2 用 $KMnO_4$

在酸性溶液中滴定。底物(H_2O_2)不同的浓度为已知,反应后,用 KMnO_4 滴定可求出反应前后 H_2O_2 的浓度差即反应速度,作图可求出 H_2O_2 酶的米氏常数。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 锥形瓶(50ml 7个)。
2. 吸量管(5ml 2支、2ml 5支、1ml 3支)
3. 血色素吸管(1支)。
4. 酸式滴定管(50ml 2支)。
5. 量筒(5ml 1个)。
6. 滴定管台架(1个)。

二、试剂和材料

1. 0.0040 mol/L KMnO_4 溶液,

0.02 mol/L KMnO_4 贮存液:称取 KMnO_4 (A.R.) 3.4 g,溶于1000ml 蒸馏水中,加热搅拌,待全部溶解,用表面皿盖好,在低于沸点的温度加热数小时,冷却并放置过夜;再用玻璃丝过滤,置于棕色瓶内保存。

临用前,吸取上述约0.02mol/L KMnO_4 贮存液20.0ml 于锥形瓶中,加入浓 H_2SO_4 1 ml,于70°C 用标准0.0500mol/L 草酸钠溶液标定。根据标定结果,将0.02mol/L KMnO_4 溶液稀释成0.0040 mol/L KMnO_4 溶液。每次配制,都必须重新标定贮存液。

2. 0.075mol/L H_2O_2 溶液。

3. 25% H_2SO_4 溶液。

4. pH7.0 0.2mol/L 磷酸盐缓冲液, 0.2 mol/L Na_2HPO_4 61.0ml 与0.2mol/L NaH_2PO_4 39.0ml 混合。

5. 新鲜人血液或新鲜兔血液。

操作:

一、 H_2O_2 浓度的标定

取干燥的50ml 锥形瓶2个, 各加浓度约为0.075mol/L H_2O_2 溶液2.0ml 和25% H_2SO_4 溶液2.0ml, 分别用0.0040mol/L KMnO_4 溶液滴定至微红色, 记录消耗的 ml 数。取平均值, 计算准确的 mol/L 浓度。计算公式如下,

$$\text{mol/L}(\text{H}_2\text{O}_2) = \frac{5}{2} \text{mol/L}(\text{KMnO}_4) \cdot V(\text{KMnO}_4) / V(\text{H}_2\text{O}_2)$$

二、血液的稀释

用血色素吸管吸取新鲜血液(或等体积0.9% NaCl悬浮的血球)20 μl 用蒸馏水稀释至5.0ml, 再加 pH7.0, 0.2mol/L 磷酸盐缓冲液55.0ml, 摇匀, 即为1:3000稀释的血液。(如用新鲜兔血液稀释比例1:1000)。

三、反应速度的测定,

取干燥的 50 ml 锥形瓶 5 只, 编号按下表操作,

编 号	1	2	3	4	5
加入()mol/L H_2O_2 (ml)	4.5	3.5	2.5	1.5	1.0
蒸馏水(ml)	—	1.0	2.0	3.0	3.5
1:3000稀释血液(ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

1:3000稀释血液应以一分钟间隔加入, 加后立即摇匀。每瓶准确静置5分钟, 到时间立即加25% H_2SO_4 2ml, 加入速度愈快愈好, 边加边摇, 使酶促反应迅速中止。最后用标准0.0040mol/L KMnO_4 溶液滴定, 记录各瓶消耗 KMnO_4 溶液的 ml 数。

记录室温。

四、计算

1. 反应瓶中 H_2O_2 浓度[S]的计算,

$$[S](\text{mol/L}) = \frac{\text{mol/L}(\text{H}_2\text{O}_2) \times V(\text{H}_2\text{O}_2)}{5}$$

$$= \frac{\text{mmol}(\text{H}_2\text{O}_2)}{5}$$

2. 反应速度 v 的计算 (以 H_2O_2 被分解的 $\text{mmol}/5$ 分表示反应速度),

$$\begin{aligned} v &= \text{加入 } \text{H}_2\text{O}_2 \text{ 的 mmol 数} - \text{剩余的 } \text{H}_2\text{O}_2 \text{ 的 mmol 数} \\ &= \text{mol/L}(\text{H}_2\text{O}_2) \times V(\text{H}_2\text{O}_2) \\ &\quad - \frac{5}{2} \text{mol/L}(\text{KMnO}_4) \times V(\text{KMnO}_4) \end{aligned}$$

3. 求 K_m 值,

以 $\frac{1}{v}$ 对 $\frac{1}{[S]}$ 作图, 将所得的直线延长与横轴相交, 该交点在数值上等于 $-\frac{1}{K_m}$.

计算举例:

下面引用一次实验结果作为例子, 求出 H_2O_2 酶的 K_m 值。

1. H_2O_2 浓度的标定:

取 2.0ml 约 0.075mol/L H_2O_2 溶液, 用 0.0040 mol/L KMnO_4 溶液滴定, 第一次用 15.03ml, 第二次用 14.97ml, 平均为 15.00ml。算出 H_2O_2 的 mol/L 为

$$\begin{aligned} \text{mol/L}(\text{H}_2\text{O}_2) &= \frac{5}{2} \times 0.0040 \times 15.00 / 2.0 \\ &= 0.0750 \text{mol/L} \end{aligned}$$

2. H_2O_2 酶作用的底物浓度 $[S]$ 和反应速度 v 的计算:

经上述实验方法测得经红细胞 H_2O_2 酶作用后, 滴定剩余 H_2O_2 所消耗的 0.0040mol/L KMnO_4 溶液量为 1 号瓶 24.68ml, 2 号瓶 17.55ml, 3 号瓶 11.25ml, 4 号瓶 5.48ml, 5 号瓶 2.81 ml。由下表计算出各瓶的 $[S]$ 和 v , 以及 $\frac{1}{v}$ 和 $\frac{1}{[S]}$ 。

瓶 号	1	2	3	4	5
(1) 加入0.0750mol/L H_2O_2 (ml)	4.5	3.5	2.5	1.5	1.0
(2) H_2O_2 酶作用后滴定所消耗0.0040mol/LKMnO ₄ (ml)	24.68	17.55	11.25	5.48	2.81
(3) 加入 H_2O_2 的m mol =(1) \times 0.0750	0.3375	0.2625	0.1875	0.1125	0.0750
(4) 剩余 H_2O_2 的m mol =(2) $\times \frac{5}{2} \times 0.0040$ =(2) $\times 0.01$	0.2468	0.1755	0.1125	0.0548	0.0281
(5) 反应速度 $v = (3) - (4)$	0.0907	0.0870	0.0750	0.0577	0.0469
(6) 底物浓度 $[S] = \frac{(3)}{5}$	0.0675	0.0525	0.0375	0.0225	0.0150
(7) $\frac{1}{v}$	11.025	11.494	13.333	17.331	21.322
(8) $\frac{1}{[S]}$	14.815	19.048	26.667	44.444	66.667

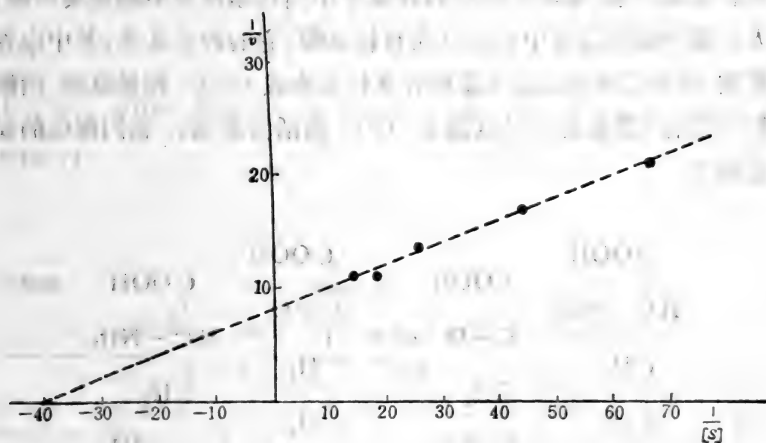


图 9 $\frac{1}{v}$ 对 $\frac{1}{[S]}$ 作图求 K_m 值

3. 图解

以 $\frac{1}{v}$ 对 $\frac{1}{[S]}$ 作图, 并将直线延长与横轴相交, 得 $-\frac{1}{K_m} = -40$ 。
求得红细胞 H_2O_2 酶 $K_m = 0.025 \text{ mol/L}$ 。(见图 9)

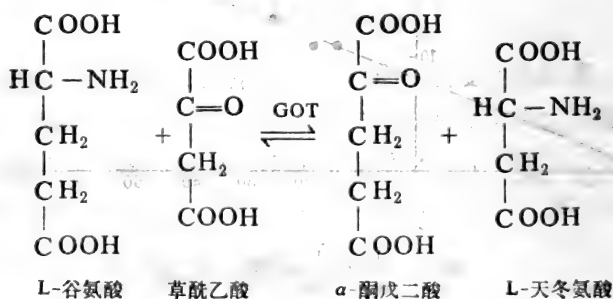
实验十一 氨基移换反应 ——血清转氨酶活力的测定

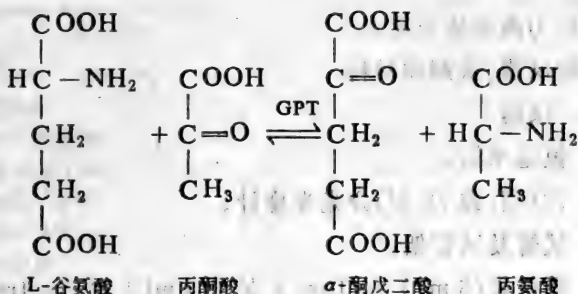
目的和要求

1. 学习用比色法测定谷-丙转氨酶活力。
2. 了解测定谷-丙转氨酶活力在临床诊断上的意义。

原理

α -氨基酸的 α -氨基与 α -酮酸的 α -酮基互换的反应, 称为氨基移换反应。催化此类反应的酶称为转氨酶。转氨酶在氨基酸的合成和分解、尿素和嘌呤的合成等中间代谢过程中起重要作用。人体各种组织器官中普遍存在有转氨酶, 它的种类甚多, 其中以谷氨酸-草酰乙酸转氨酶 (简称谷草转氨酶或 GOT) 和谷氨酸-丙酮酸转氨酶 (简称谷丙转氨酶或 GPT) 的活力最强。它们催化的反应如下:

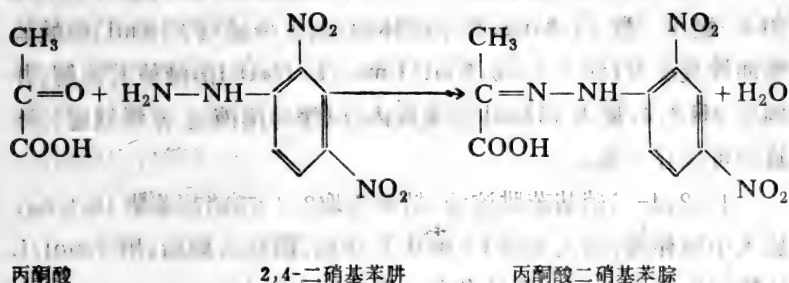




转氨酶主要存在于细胞内,在正常情况下只有极少量被释放到血浆中。当组织病变而引起细胞的通透性增加,细胞内的转氨酶大量地稀放出来,使血浆内的转氨酶超过正常水平。所以测定血浆或血清转氨酶的活力已广泛作为多种疾病诊断的重要参考指标。

测定转氨酶活力的方法很多,本实验采用金氏法测定血清谷-丙转氨酶活力。

谷-丙转氨酶作用于丙氨酸和α-酮戊二酸后,生成的丙酮酸与2,4-二硝基苯肼作用生成红棕色的丙酮酸硝基本腙,可用比色法测定丙酮酸含量。



在一定的时间、温度、底物浓度等条件下,丙酮酸的生成量与

① 2,4-硝基苯肼虽然能和丙酮酸及剩余底物中的α-酮戊二酸分别反应形成各自对应的2,4-硝基苯腙,在碱性条件下,虽然两种苯腙分别显出红棕色,但由于丙酮酸生成的颜色较深,以同等摩尔计算,在490—535 nm波长范围内其显色程度约为α-酮戊二酸生成的颜色的3倍,利用上述差别可以看出丙酮酸的生成量。而且在做标准曲线时,两种酮酸的变化也能客观地代表酶作用的实际情况,因而标准曲线上单位的数字就能准确地反映出酶活力的大小。

转氨酶活力高低成正比^①。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 恒温水浴。
2. 721型(或72型)分光光度计。
3. 试管及试管架。

4. 吸量管(5 ml 1支、1 ml 4支、0.2 ml 1支、0.1 ml 4支)。

二、试剂和材料

1. 2.0 $\mu\text{mol/ml}$ 标准丙酮酸溶液:准确称取丙酮酸钠(A. R.)11.0 mg,定溶于50 ml 0.1 mol/L pH 7.4 磷酸盐缓冲液中。临用前配制。

2. 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.4):称取无水磷酸二氢钾 2.69 g 和磷酸氢二钾($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)13.97 g,加蒸馏水溶解后移至1 L 容量瓶中,校正 pH 至 7.4,然后加蒸馏水至刻度,贮存于冰箱内备用。

3. 谷丙转氨酶底物液(pH 7.4):精确称取DL-丙氨酸 1.79 g 和 α -酮戊二酸 29.2 mg,放小烧杯内,加入少量(约 15 ml)磷酸盐缓冲液及少量(约 0.5—0.8 ml)1 mol/L NaOH溶液使其溶解,并调至 pH 7.4,放入 100 ml 容量瓶内,以缓冲溶液定容到刻度。冰箱中可保存一周。

4. 2,4-二硝基苯肼溶液:精确称取2,4-二硝基苯肼 19.8 mg,放入小烧杯内,加入 50 ml 1 mol/L 盐酸,微热溶解后,用 1 mol/L 盐酸定容至 100 ml。放棕色瓶内置冰箱中保存。

5. 0.4 mol/L 氢氧化钠溶液:取标定的 1 mol/L 氢氧化钠 400 ml,加蒸馏水至 1000 ml。

6. 人血清或兔血清。

操作

一、标准曲线的测绘

试剂(ml) \ 管号	0	1	2	3	4	5
丙酮酸钠标准液	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
COT(或GPT)底物液	0.50	0.45	0.40	0.35	0.30	0.25
磷酸盐缓冲液(0.1mol/L)	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
37°C水浴预温 5 分钟						
2,4-二硝基苯肼溶液	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
37°C水浴20分钟						
0.4mol/L NaOH	5.0	6.0	5.0	5.0	5.0	5.0
相当于丙酮酸含量(μmol)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
相当SGPT单位	0	28	57	97	150	200
相当于SGOT单位	0	24	61	114	190	
OD ₅₂₀						

取 6 支干燥试管,编号,按上表操作:

各管加毕,混匀置水浴中保温 10 分钟后,置自来水中冷却。以 490—535 nm 波长(可选 520 nm)进行比色测定,以蒸馏水校正光密度到 0 点,然后读取各管光密度读数,并计算出各管的三个重复测定的光密度均值,将各号管光密度的均值减去 0 号管光密度的均值,所得差值与其对应的丙酮酸含量(或酶活力单位数)作标准曲线,并将 0 号管读数的均值标在标准曲线图上,供样品测定中验证试剂空白管用①。

二、酶活性测定

取两支试管,注明测定管及试剂空白管。按下表操作:

① 标准曲线上数值的准确性大致可分为三部分:第一部分 20 单位以下,由于光密度值较小,数值不一定准确;第二部分 20—100 单位,数值是比较准确可靠的;第三部分 100—200 单位,准确度较差,只能大致反映酶活力的大小。超过 200 单位时,需将样品稀释后再进行测定。

	测 定 管	试 剂 空 白 管
谷丙转氨酶底液(ml)	0.5	0.5
	37°C水浴保温 5 分钟	
血清(ml)	0.1	0.1
	37°C水浴保温 60 分钟	
2,4-二硝基苯肼溶液(ml)	0.5	0.5
血清(ml)	—	0.1
	37°C水浴保温 20 分钟	
0.4mol/LNaOH(ml)	5.0	5.0

加毕,混匀,置水浴中 10 分钟后取出,放置自来水中冷却,测定各管 OD 520,以蒸馏水校正光密度到 0 点,读取测定管和试剂空白管的光密度数值。

如果试剂空白管的光密度与在绘制标准曲线时测得的试剂空白管光密度均值之差 ± 0.015 范围内,说明这次实验试剂正常,则将测定管光密度减去试剂空白管光密度值后,查标准曲线,即得血清样品的丙酮酸含量(或酶活力单位数)。

如果试剂空白管光密度超出了绘制标准曲线时测得的试剂空白管光密度均值 ± 0.015 范围,则须检查试剂及其他方面的原因,找出问题(一般是 2,4-二硝基苯肼由于结晶析出,浓度降低或基质中 α -酮戊二酸称量不准引起),纠正以后,重新测定。

计算:

本法规定血清在 37°C 与底物作用 60 分钟后,生成 1 μmol 丙酮酸为一个谷-丙转氨酶活性单位,所以每 100 ml 待测血清中所含有的谷-丙转氨酶的活力按下式计算:

谷-丙转氨酶活性单位/100 ml =

$$\text{标准曲线中查知的 } \mu\text{mol 数} \times \frac{100}{0.1}$$

注意事项

1. 血清标本不宜溶血, 且最好在采血的当天进行测定, 如不能当天操作, 可贮于冰箱中 1—2 天。

2. 如所得之光密度读数已超过标准曲线的直线部分, 表示酶活性过高, 此时, 需将血清稀释 10 倍后再次进行测定。

3. 测定结果与作用时间、温度及试剂的 pH 有密切关系, 在操作时应准确掌握。

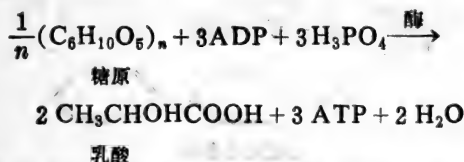
实验十二 肌糖原的酵解作用

目的和要求

1. 了解糖酵解作用在糖代谢过程中的地位及生理意义。
2. 学习检定糖酵解作用的原理和方法。

原理

在动物、植物和微生物等许多生物体内, 糖的无氧分解的基本过程是一致的。肌糖原的酵解作用就是肌糖原在缺氧的条件下 (如剧烈运动时), 经过一系列的酶促反应最后转变为乳酸的过程。总反应如下:



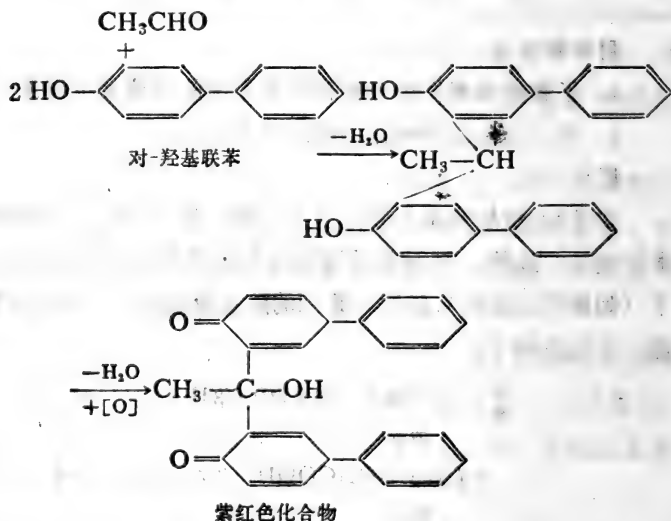
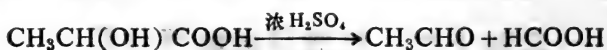
肌糖原酵解产生的 ATP 可暂时满足剧烈运动时肌肉对能量的急需。

在有氧条件下, 酵解过程中产生的丙酮酸进入三羧酸循环氧化分解, 所以不产生乳酸。

糖酵解作用的实验, 一般用成熟的红细胞、肌肉糜或肌肉提取液。成熟的红细胞无细胞核和线粒体, 不能进行糖的有氧氧化, 主

要靠葡萄糖酵解供能。在肌肉细胞内催化三羧酸循环的酶系统集中在线粒体中,催化酵解作用的酶系统存在于细胞质,制备肌肉提取液时,只能提取到催化酵解作用的酶,而不能提取到催化三羧酸循环的酶系,所以用肌肉提取液或红细胞做酵解作用的实验,可以在有氧条件下进行,而用肌肉糜时,则必须无氧条件下进行。

糖酵解生成的最终产物乳酸,与浓硫酸共热分解为乙醛和甲酸。乙醛与对-羟基联苯反应产生紫红色化合物,利用比色法可测出乳酸的生成量。由此可计算酵解作用的强度。



此方法比较灵敏,每毫升溶液含 1—5 微克乳酸即给出明显的颜色反应。若有大量糖类和蛋白质等杂质存在,则严重干扰测定。因此,实验中应尽量除净这些物质,而且测定所用的仪器应严格地洗涤干净。

实验仪器、试剂和材料

一、仪器

1. 解剖剪、解剖针、镊子及解剖盘。

2. 试管及试管架。

3. 玻棒。

4. 恒温水浴箱。

5. 玻璃漏斗及滤纸。

6. 量筒(5 ml 6 个)。

7. 沸水浴。

8. 冰水浴。

9. 表面皿。

10. 架盘天平。

11. 研钵。

12. 离心机。

二、试剂和材料

1. 实验动物:兔或大鼠。

2. 1/15 mol/L 磷酸盐缓冲液:

甲液: 1/15 mol/L KH_2PO_4 溶液: 称取 9.067 g KH_2PO_4 溶于蒸馏水中, 定容至 1000 ml。

乙液: 1/15 mol/L Na_2HPO_4 溶液: 称取 11.867 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (或 23.867 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 溶于蒸馏水中, 定容至 1000 ml。

1/15 mol/L pH 7.4 磷酸盐缓冲液: 甲液:乙液=1:4(V/V) 混合。

3. 0.5% 糖原溶液 (或 0.5% 淀粉溶液)。

4. 液体石蜡。

5. 15% 偏磷酸。

6. 饱和硫酸铜溶液。

7. 氢氧化钙粉末。

8. 1.5%对-羟基联苯试剂:称取对-羟基联苯 1.5 g,溶于100 ml 0.5%NaOH 溶液,配成 1.5%的溶液。若对-羟基联苯颜色较深,应用丙酮或无水乙醇重结晶。放置时间较长后会出现针状结晶,应摇匀后使用。

9. 浓硫酸。

操作:

一、处死动物和制备肌肉糜

用解剖针由家兔的大枕孔插入,破坏其延脑,家兔立即死去。由颈动脉放血。立即剖取背部和腿部肌肉,放在表面皿中,置冰水浴上用剪刀尽量把肌肉剪碎成为肌肉糜,低温保存备用。注意应在临用前制备。

二、肌肉糜的糖酵解

取 4 支试管,编号后各加入 3 ml 1/15 mol/L 磷酸缓冲液和 1 ml 0.5%糖原溶液(或 0.5%淀粉溶液)。1、2 号管为试验管,3、4 号管为对照管。向对照管加 15%偏磷酸 2 ml(为了沉淀蛋白质和终止酶反应)。然后向每支试管加入新鲜肌肉糜 0.5 g,用玻棒将肌肉碎块打散搅匀,再分别加入小许液体石蜡(约 1 ml/管),使它在液面形成一薄层以隔绝空气,并将 4 支试管同时放入 37°C 恒温水浴中保温两小时。

两小时后取出试管,立即向 1、2 号管加入 15%偏磷酸 2 ml,混匀。将各试管内容物分别过滤,弃去沉淀。量取每个样品的滤液 4 ml,分别加入已编号的试管中,然后向每管加入饱和硫酸铜溶液 1 ml,混匀,再加入 0.4 g 氢氧化钙粉末,塞上橡皮塞后用力振荡。因皮肤上有乳酸,勿使手指接触。放置 30 分钟,并多次振荡,使糖沉淀完全。将每个样品分别过滤或离心(3000 r/min, 15 分钟),弃去沉淀。

三、乳酸的测定

分解乳酸为乙醛:取4支干燥试管,编号,取上述每个样品的滤液0.5 ml分别加入各试管中,将试管置于冰浴中,加入浓硫酸3 ml,充分摇匀,置沸水浴中加热5分钟。再移至水浴中冷却。

显色:冷却后,向各试管加入1.5%对-羟联苯试剂2滴,在冰浴中激烈振摇,使沉淀均匀分散。将试管置沸水浴中煮沸10分钟,冷却后比较和记录各管溶液的颜色深浅,并加以解释。

主要参考书

1. 聂剑初等合编:《生物化学简明教程》,高等教育出版社,第二版,1988年。
2. 郑集编著:《普通生物化学》,高等教育出版社,第二版,1985年。
3. 沈同等编著:《生物化学》,高等教育出版社,1981年。
4. 张昌颖主编:《生物化学》,人民卫生出版社,第二版,1985年。
5. 张玉中等编:《基础生物化学问答》,科学普及出版社,1980年。
6. 陶慰孙等:《蛋白质分子基础》,高等教育出版社,1981年。
7. 林其谁编著:《生物膜的结构与功能》,科学出版社,1983年。
8. 刘培楠、吴国利主编:《基础分子生物学》,高等教育出版社,1983年。
9. E. 哈贝尔斯:《核酸——生化与功能》(1975),中译本,上海科学技术出版社,1981年。
10. A. L. 伦宁格著:《生物化学》,第二版(1975)中译本,科学出版社,1981年。
11. J. N. 达维生著:《核酸的生物化学》,第八版(1976)中译本,科学出版社,1983年。
12. J. D. 沃森著:《基因的分子生物学》,第三版(1976)中译本,科学出版社,1982年。
13. 南京大学袁玉荪、朱婉华、陈钧辉编:《生物化学实验》,第二版,高等教育出版社,1988年。
14. 北京师范大学生物系生物化学教研室编:《基础生物化学实验》,高等教育出版社出版,1983年。
15. Orten, J. M. and Neuhaus, O. W.: Human Biochemistry 10th edition, Se Louis, Mes 1982.
16. Zubay, G. L.: Biochemistry, Addison-Wesley Publish company, 1983.
17. R. L. P. Adams, R. H. Burdon, A. M. Campbell, D. P. Leader and R. M. S. Smellie: The Biochemistry of the Nucleic Acids,



S0017409

- 9th ed. London, Chapman and Hall, 1981.
18. Emil, L. Smith. and Robert, L. Hill: Principles of Biochemistry, McGraw-Hill Book Company, 1983.
19. Boulter, D. and B. Parthier: Nucleic Acids and proteins in plants 1: Springer-Verlag. New York, 1982.

91 3 19

主 要 参 考 文 献

3.20元

611683

91.3.19

1. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
2. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
3. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
4. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
5. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
6. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
7. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
8. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
9. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
10. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
11. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
12. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
13. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
14. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
15. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
16. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
17. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
18. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
19. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.
20. 植物生理与生态, 1981, 1(1), 1-10.

58.173

966

013997

书 名

生物化学

借者姓名

罗毅波

借出日期

93.7.20

还书日期

分 类	编 号
58.173	966
登记号	

013997

读者注意

1. 爱护公共图书切勿任意卷折和涂写，损坏或遗失照章赔偿。
2. 请在借书期限前送还以便他人阅读请赐予合作。

成1106-1

卫星电视教育中学教师培训教材

生物专业

植物学 上册	华东师大	ISBN 7-04-001420-3
植物学 下册	华东师大	ISBN 7-04-001421-1
植物学实验指导 (形态解剖部分)	高信曾	ISBN 7-04-003129-9
普通动物学(第二版)	武汉大学南京 大学北师大	ISBN 7-04-001411-4
普通动物学实验指导	武汉大学	ISBN 7-04-001412-2
无机及分析化学	杨克用	ISBN 7-04-000028-8
无机与分析化学学习指导书	田荷珍	ISBN 7-04-000998-6
人体解剖生理学	曾晓春	ISBN 7-04-000917-X
人体解剖生理学实验	曾晓春	ISBN 7-04-000580-8
生物化学	钟洪根	ISBN 7-04-000715-7
生物化学实验	袁玉芬	ISBN 7-04-000242-6
植物生理学	刘钟栋	ISBN 7-04-002048-3
植物生理学实验指导(第二版)	张志良	ISBN 7-04-002723-2
微生物学	谭洪治	ISBN 7-04-000581-6
微生物学实验(第二版)	范秀蓉	ISBN 7-04-002014-9
遗传学	黄裕泉	ISBN 7-04-000398-8
遗传学实验	河北师大	ISBN 7-04-000399-6
有机化学	汪小兰	ISBN 7-04-000875-0
中学生物学教学法	沈复初	ISBN 7-04-002357-3

ISBN 7-04-000765-7/O·682

定价 3.20 元